ANNALES DE PARASITOLOGIE

HUMAINE ET COMPARÉE

TOME VII — 1er SEPTEMBRE 1929 — N° 5

MÉMOIRES ORIGINAUX

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DES EPERYTHROZOAIRES COCCOÏDES

Par R. BRUYNOGHE et P. VASSILIADIS

Les suites de la splénectomie ne sont pas les mêmes chez les diverses espèces animales. Bon nombre d'animaux supportent cette intervention sans présenter de troubles et sans montrer la moindre altération sanguine. Plusieurs espèces de rongeurs, par contre, contractent, à la suite de la splénectomie, une anémie grave due à des parasites du genre *Grahamella* et connus sous le nom de *Bartonella*.

En pratiquant la splénectomie chez des rongeurs variés, nous avons constaté que cette opération fait apparaître, dans le sang de certains d'entre eux et notamment chez les souris, un parasite nettement distinct de ceux étudiés par Graham, Mayer et ses collaborateurs, Lauda, etc...

En parcourant la bibliographie de cette question, nous avons appris que deux auteurs avant nous avaient observé le parasite qui fait l'objet de cette étude et l'avaient décrit, l'un (Schilling) sous le nom d'*Eperythrozoon coccoides*, l'autre (Dinger) sous le nom de *Gyromorpha musculi*. Afin de ne pas compliquer la question, nous avons désigné les parasites en question sous la dénomination proposée dans la première étude parue à son sujet.

Il s'agit, en réalité, de petits parasites ronds, coccoïdes ou annulaires, suivant leur provenance, et dont le diamètre varie de 0 μ, 5 à

1 μ, 4 avec une dimension moyenne de 0 μ 7. On les trouve dans le plasma comme sur les globules, le plus grand nombre étant toutefois accolés aux hématies, surtout aux globules polychromatophiles. Ils se colorent au Giemsa, au bleu de Borrel et même au bleu de méthylène ordinaire. Nous n'avons pas pu les déceler dans les frottis colorés par la méthode de Gram.

Les techniques suivantes nous ont fourni de belles préparations.

1° Les frottis bien étalés et rapidement séchés sont fixés au May-Grünwald ou à l'alcool méthylique suivant que nous utilisons comme colorant le Giemsa ou le bleu de Borrel.

2° Dans le premier cas, les préparations, recouvertes depuis 3 minutes de May-Grünwald, reçoivent un nombre identique de gouttes d'eau distillée. Après une minute de contact du mélange en question, nous laissons couler celui-ci et plongeons les préparations durant une heure dans une dilution de Giemsa (2 gouttes par cm^3 d'eau distillée), la surface à colorer étant tournée en dessous.

Quand nous colorons au bleu de Borrel, les frottis fixés à l'alcool méthylique durant cinq minutes sont lavés à l'eau distillée et plongés après, durant 20 minutes, dans le bleu de Borrel (éosine à 1 p. 4.000, 2 centimètres cubes + bleu de Borrel, 3 gouttes), également la surface à colorer étant vers le bas.

3° Les préparations sont longuement lavées à l'eau distillée et examinées.

Toutes les formes annulaires n'ont pas un contour également régulier et bon nombre d'entre elles présentent une partie plus ou moins épaissie. Certaines formes peuvent même montrer deux épaississements, généralement placés l'un vis-à-vis de l'autre, et simulant quelquefois des espèces de prolongements. Nous avons eu l'impression que les éléments bacilliformes trouvés soit sur les globules, soit dans le plasma, appartenaient également à ces parasites et constituaient éventuellement une étape de leur développement.

Quoi qu'il en soit de cette question, nous signalons que les éléments bacilliformes envisagés avaient la même affinité pour les matières colorantes et ne se distinguaient en rien des prolongements tantôt droits, tantôt légèrement incurvés que nous avons constatés sur les formes annulaires. Quant aux parasites coccoïdes, ils nous ont fait nettement l'impression d'être constitués des petits disques pareils aux globules rouges, c'est-à-dire munis de surfaces légèrement concaves.

Ces parasites nous ont paru se multiplier par division simple. En effet, les frottis montrent habituellement, à côté des formes types, d'autres qui, suivant leur stade de développement, ont l'aspect de

bacilles ou de coccus accolés. Les éléments de division sont plus petits que les formes adultes et se présentent toujours sous l'aspect coccoïde aussi bien chez les souris et les rats que chez les campagnols. Ce n'est qu'en se développant que les épérythrozoaires de souris et de rats deviennent nettement annulaires.

I. Répartition des épérythrozoaires. — Nous faisons d'abord remarquer que les parasites annulaires ou coccoïdes, observés dans le sang des animaux splénectomisés, ne représentent pas nécessairement un seul et même parasite. Comme nous aurons l'occasion de le signaler dans le paragraphe suivant, leur morphologie et les résultats de certains essais de transmission plaident pour leur diversité.

Etant donné que la splénectomie sans aucune injection préalable peut faire apparaître ces parasites dans le sang des animaux, il faut que ceux-ci soient infectés à l'état latent, soit que les parasites résident dans certains organes, soit qu'ils existent dans le sang à l'état d'éléments tellement rares qu'ils échappent aisément aux investigations habituelles.

Afin de nous renseigner sur leur présence éventuelle dans le sang des rongeurs non splénectomisés, nous avons longuement examiné des frottis. Nous donnons ci-dessous le résultat de nos examens :

Animaux	Résultat
15 souris blanches	Une seule montre de très rares éléments.
12 rats blancs	Tous négatifs.
6 souris sauvages	Une seule montre d'assez rares épérythrozoaires.
6 rats noirs (*Mus rattus*)	Tous négatifs.
6 rats gris (*Mus decumanus*)	Tous négatifs.
3 mulots (*Mus sylvaticus*)	Tous négatifs.
14 campagnols (*Arvicola arvalis*)	Quatre positifs, trois avec de très rares parasites et un seul avec des parasites un peu plus nombreux.
12 souris naines (*Mus minutus*)	Une positive.

Sur le grand nombre de rongeurs examinés, quelques-uns ont montré le parasite dans le sang à l'état normal. Sans doute, nos

résultats négatifs ne permettent pas d'exclure leur présence dans le sang, étant donné que l'examen microscopique porte toujours sur une quantité infime de sang. Nous ne pensons toutefois pas que chez les animaux en infection latente les parasites existent nécessairement dans la circulation, étant donné que nous avons obtenu au moins un résultat négatif dans un essai de transmission pratiqué au moyen de sang prélevé avant la splénectomie, l'animal fournisseur du sang ayant montré de nombreux épérythrozoaires après cette intervention.

A moins d'admettre que les parasites en question puissent être rares au point de faire défaut dans plusieurs gouttes de sang, il y a lieu de supposer qu'ils peuvent éventuellement aussi résider dans certains organes au cours de l'infection latente.

Quoi qu'il en soit, la splénectomie les fait apparaître dans le sang chez la plupart de ces rongeurs. Il ne nous est pas possible de préciser le mécanisme d'action de cette intervention et nous nous contentons de signaler que la splénectomie partielle (un fragment ayant été laissé aux deux pôles) et la ligature de l'artère splénique sans enlèvement de la rate ont déclenché le même développement des épérythrozoaires. Ce résultat n'a rien d'inattendu, étant donné que dans ces cas la rate ou ses fragments ont subi la nécrose, constatée à l'autopsie. Chez deux autres souris, nous avons pratiqué la splénectomie partielle de façon à laisser persister un fragment médian de rate bien nourri, vu son rapport avec l'artère splénique. Ici encore, l'intervention a été suivie, dès le surlendemain, d'un développement d'épérythrozoaires.

Enfin, nous ajoutons que l'inoculation de pulpe splénique fut aussi sans effet sur l'apparition et la multiplication des parasites en question.

Les épérythrozoaires font leur apparition dans le sang après une période d'incubation de 1 à 7 jours. Le plus souvent, dès le lendemain ou le surlendemain de la splénectomie, les parasites commencent à apparaître : d'abord peu nombreux, ils deviennent, au bout de 24 à 48 heures, fort abondants pour, après quelques variations irrégulières, diminuer en nombre et persister à l'état d'éléments peu nombreux durant des semaines. Des examens pratiqués trois mois après la splénectomie ont permis de déceler encore des parasites. Toutefois, chez les campagnols et les souris naines, leur présence est plus éphémère et les parasites, habituellement très nombreux au second ou au troisième jour qui suivent la splénectomie, disparaissent complètement au cours de la seconde ou de la troisième semaine.

Nous donnons ci-dessous le résultat de la splénectomie au point de vue du développement des épérythrozoaires dans le sang.

Animaux	Résultat
33 souris blanches	33 positives.
11 souris sauvages	8 positives.
10 souris naines	7 positives.
13 campagnols	13 positifs.
3 mulots	2 positifs.
12 rats blancs	12 négatifs.
6 rats noirs	6 négatifs.
6 rats gris	1 positif.

Comme ce tableau l'indique, plusieurs espèces de rongeurs ont fourni un pourcentage très élevé d'infections. Il en fut notamment ainsi des souris blanches, des souris sauvages, des souris naines, des campagnols et des mulots. Quant aux rats, sur les 24 animaux examinés, un seul et notamment un *Mus decumanus* provenant du même foyer où avaient été pris les campagnols, les souris naines, etc..., a montré des épérythrozoaires. Quant aux souris sauvages qui se sont montrées indemnes de ces parasites, nous précisons qu'elles avaient été capturées dans un autre milieu (en ville) que les souris infectées.

Le développement de ces parasites ne s'accompagne d'aucun trouble et ne produit aucune altération spéciale du sang. Les épérythrozoaires sont donc, pour autant que nos essais permettent d'en juger, dépourvus de pouvoir pathogène.

II. Transmission des épérythrozoaires. — Ces essais ont été institués dans le but d'établir la nature parasitaire des formes étudiées. Il est évident que si nous pouvions reproduire celles-ci par infection, chez des animaux qui en étaient indemnes, leur nature parasitaire devrait être considérée comme établie. Dès le début, ces recherches nous ont donné des résultats positifs. Elles ont été étendues dans la suite afin de mettre en évidence certaines différences qui existent entre les épérythrozoaires des diverses espèces de rongeurs.

Envisageons d'abord les résultats de l'inoculation de sang parasité prélevé chez des souris blanches.

a. — Deux rats blancs indemnes d'épérythrozoaires sont inoculés avec du sang richement parasité.

L'un d'eux, notamment celui qui était splénectomisé depuis 20 jours au moment de l'inoculation du sang, ne montre dans la suite, à aucun moment, des parasites.

L'autre, splénectomisé le jour de son infection, montre, après une incubation de 12 jours, de rares parasites dans le sang. Ceux-ci n'y font toutefois qu'une apparition très éphémère et après deux jours ils disparaissent au point d'être régulièrement absents dans les frottis du sang.

Nous admettons volontiers qu'on pourrait à la rigueur discuter la valeur de ce résultat positif. Sans doute, l'essai aurait été plus démonstratif s'il avait été obtenu chez un animal splénectomisé depuis quelques jours et dont on aurait pu déterminer, par des examens fréquents du sang, que les parasites en question n'étaient pas apparus spontanément. Toutefois, quand on tient compte des données fournies dans le paragraphe précédent et notamment du fait que douze rats blancs du même élevage ont subi la splénectomie sans montrer des épérythrozoaires dans la suite, nous croyons pouvoir considérer l'expérience sus-indiquée comme une transmission positive. D'ailleurs Dinger a obtenu également un résultat positif dans un essai identique, et les parasites ont persisté dans le sang de son animal inoculé durant des semaines.

b. — Le sang parasité prélevé chez des souris blanches splénectomisées a été inoculé avec succès à une souris sauvage qui avait subi l'extirpation de la rate depuis onze jours et qui, jusqu'au moment de l'inoculation, n'avait à aucun examen montré des épérythrozoaires : quatre jours après cette injection, les parasites en question ont apparu dans le sang et s'y sont maintenus durant des semaines.

c. — Une souris naine, splénectomisée depuis onze jours et dont le sang régulièrement examiné s'était montré négatif au point de vue de la présence d'épérythrozoaires, est inoculée avec du sang d'une souris blanche richement parasitée. Elle ne s'infecte pas. Après 20 jours de contrôle, elle reçoit des épérythrozoaires de la souris naine. Quatre jours après cette inoculation, elle montre des parasites.

d. — Enfin du sang de souris blanches en infection a été inoculé à des souris blanches splénectomisées et dont on avait fait disparaître les parasites par un traitement arsenical. Bien entendu, la réinfection de ces animaux s'est faite à un moment où le médicament arsenical était suffisamment éliminé pour permettre le développement des épérythrozoaires inoculés.

Dans ces essais, les souris réinfectées ont montré des épérythrozoaires dans le sang à un moment où les témoins (souris traitées et non réinoculées) étaient encore indemnes de parasites. La transmission des épérythrozoaires de rats et de mulots a été réalisée dans des conditions telles qu'elles excluent tout doute. En effet, nous avions un nombre suffisant de rats blancs splénectomisés dont le sang avait été régulièrement trouvé indemne de parasites pour faire des essais multiples et réaliser des transmissions en série.

Nous donnons ci-dessous quelques précisions au sujet de ces essais.

Le sang d'un *Mus decumanus* qui montre des épérythrozoaires à la suite de la splénectomie est inoculé à des animaux indemnes, notamment :

1° à deux rats splénectomisés depuis plus de trois semaines ;

2° à deux jeunes rats non splénectomisés (leur poids était inférieur à 20 grammes) ;

3° à deux jeunes lapins normaux ;

4° à un jeune cobaye normal.

Les deux rats splénectomisés montrent des épérythrozoaires dans le sang après une incubation de 6 jours ; chez l'un, les parasites subissent des variations quantitatives notables d'un jour à l'autre et persistent durant plus d'un mois ; chez l'autre, ils se montrent deux fois très abondants dans le sang à huit jours d'intervalle.

Chez les deux jeunes rats, de rares parasites ont été vus aussi dans le sang après une incubation de 9 jours chez l'un et de 18 jours chez l'autre.

Il en a été de même chez les jeunes lapins : les frottis de leur sang ayant montré des rares épérythrozoaires après une incubation de 8 jours.

Enfin le jeune cobaye n'a à aucun moment montré des parasites.

Nous ajoutons que le sang de ce même *Mus decumanus* a été inoculé avant sa splénectomie à un rat blanc splénectomisé depuis plusieurs semaines. Cet animal a montré dans la suite des parasites, ce qui établit que les épérythrozoaires existaient dans le sang de ce surmulot avant la splénectomie. L'examen microscopique de son sang n'avait toutefois pas permis de les déceler.

Le sang d'un mulot splénectomisé depuis 4 jours et contenant des épérythrozoaires est inoculé à deux rats blancs, l'un splénectomisé depuis des semaines, l'autre normal.

Le premier, après une incubation de 7 jours, montre des parasites. Le second, splénectomisé deux jours après son infection, en montre à son tour onze jours après l'inoculation du sang parasité.

Le sang du premier de ces deux rats blancs est injecté, au moment où il montre de nombreux parasites, à un autre rat blanc splénectomisé depuis des semaines. Celui-ci montre à son tour des épérythrozoaires après 6 jours d'incubation.

Pour terminer la question de la transmission expérimentale, il nous reste à résumer quelques essais pratiqués au moyen de sang parasité prélevé chez les campagnols et les souris naines.

1°. — Les épérythrozoaires de campagnols et de souris naines n'infectent pas des rats blancs splénectomisés.

Fig. 1. — *Eperythrozoon coccoïdes* Schilling, 1928, chez une souris blanche splénectomisée depuis 4 jours.

2°. — Les épérythrozoaires du *Mus decumanus* ne se développent pas dans la souris naine splénectomisée. Celle-ci, parallèlement à l'essai précédemment indiqué au sujet des épérythrozoaires de souris blanches, s'infecte à la suite de l'inoculation des parasites de la souris naine.

3°. — Le sang d'un campagnol parasité infecte une souris naine splénectomisée depuis 15 jours.

Ces différences dans les essais de transmission pourraient à la rigueur s'expliquer par la virulence et l'adaptation des parasites. Nous croyons que cette explication ne peut être admise, car nous avons constaté des différences morphologiques, d'une part entre les épérythrozoaires de souris blanches et de rats et d'autre part entre les parasites des campagnols et des souris naines.

Les épérythrozoaires des *Mus musculus*, *Mus decumanus* et *Mus sylvaticus* (fig. 1) sont morphologiquement identiques et présentent

toujours au stade adulte la forme annulaire précédemment décrite. Ils correspondent aux parasites déjà décrits sous le nom d'*Eperythrozoon coccoides* Schilling, 1928.

Les parasites de l'*Arvicola arvalis* sont la plupart nettement discoïdes et colorés d'une façon assez uniforme (coloration faible). On trouve dans les frottis çà et là un élément annulaire très semblable aux parasites de la souris naine. Enfin, les épérythrozoaires des *Mus minutus* représentent des anneaux un peu plus grands et un peu plus fins que ceux des *Mus musculus*. En outre, ils sem-

FIG. 2. — *Eperythrozoon dispar* n. sp.,
chez un campagnol splénectomisé depuis 2 jours.

blent avoir moins d'affinité pour les globules, étant donné qu'ils sont habituellement uniformément répartis dans le plasma. Pour les parasites des campagnols et des souris naines (fig. 2), nous pensons qu'il s'agit d'un type spécial pour lequel nous proposons le nom d'*Eperythrozoon dispar* n. sp.

Ajoutons que les parasites en question, à l'instar de ce que nous avons établi au sujet des *Bartonella muris ratti*, sont transmis, dans la nature, des animaux infectés aux animaux indemnes par l'intermédiaire des poux. Nous donnons ci-dessous quelques précisions au sujet de cette transmission.

Nous mettons sur un mulot et un rat blanc splénectomisés depuis des semaines et indemnes d'épérythrozoaires, des poux recueillis sur le cadavre d'un rat blanc mort de bartonellose et dont le sang était également infecté d'épérythrozoaires. Les deux animaux ainsi contaminés fournissent dans la suite des frottis montrant des *Bartonella* et des épérythrozoaires.

L'essai suivant nous a toutefois fourni un résultat négatif. Une souris sauvage, splénectomisée et indemne de parasites, est inoculée sans succès avec le produit de broyage de deux poux et d'une puce prélevés chez une souris blanche ayant de nombreux épérythrozoaires dans le sang.

III. Le traitement. — Bien que les épérythrozoaires soient dénués de tout pouvoir pathogène, nous avons examiné leur comportement à l'égard de certains produits chimiothérapiques.

a. Néosalvarsan. — Le néosalvarsan, à la dose de 2 milligr. 5, est injecté à des souris blanches qui viennent de subir la splénectomie. Elles restent indemnes de parasites durant 3 semaines (fin de leur observation). Il est évident que l'absence du développement des épérythrozoaires est à mettre sur le compte de la stérilisation opérée par le médicament, toutes les souris blanches opérées ayant régulièrement présenté des parasites nombreux après 2 à 8 jours d'incubation. Le néosalvarsan a été inoculé aussi à la même dose à des souris déjà infectées. Le lendemain de l'administration du médicament, les épérythrozoaires avaient disparu du sang.

b. Sulfarsénol. — Le produit en question est inoculé à la dose de 2 milligr. 5 à quatre souris en pleine infection parasitaire. Les frottis pratiqués le lendemain de l'inoculation du sulfarsénol ne montrent plus que de très rares parasites, lesquels disparaissent complètement le surlendemain. Après une période variant de 15 à 30 jours, ils réapparaissent dans le sang. Cette réapparition est le résultat ou d'une stérilisation incomplète (les parasites se développent à nouveau dès que le médicament est suffisamment éliminé) ou d'une réinfection par les poux. Etant donnée l'irrégularité dans la réapparition des épérythrozoaires (chez une souris au bout de 15 jours, chez une autre seulement après un mois), il est vraisemblable que la seconde explication répond à la réalité.

c. Tryparsamide. — Des souris infectées reçoivent 2 centigrammes de tryparsamide. Les parasites disparaissent du sang durant 4 à 5 jours. Vu leur réapparition précoce, il paraît évident que la tryparsamide n'a opéré qu'une stérilisation partielle et, par suite de son élimination rapide, les épérythrozoaires se développent à nouveau au bout de peu de jours. Ce médicament arsenical a été utilisé avec le même résultat chez des rats blancs infectés d'épérythrozoaires.

d. Autres produits. — Enfin nous avons essayé chez des souris blanches infectées toute une série d'autres substances médicamenteuses et notamment le stibosan à la dose de 2 milligr. 5, l'émétique

à la dose d'un quart de milligramme, le sulfate de quinine à la dose de 5 milligr. et la germanine aux doses de 2,5 et de 5 milligrammes. Tous ces produits se sont montrés dénués d'activité à l'égard des épérythrozoaires.

Résumé

1° — La splénectomie peut faire apparaître dans le sang, chez plusieurs espèces de rongeurs, des parasites ronds, annulaires ou coccoïdes, totalement distincts des autres parasites connus (*Grahamella*).

2° — Ces parasites peuvent être transmis expérimentalement à des animaux indemnes splénectomisés. Cette transmission peut même réussir chez des rongeurs d'espèces différentes.

3° — Il est vraisemblable que la transmission dans la nature d'un animal à un autre est assurée par des ectoparasites et notamment par les poux.

4° — Dans les essais de transmission expérimentale, certaines différences ont été notées d'après la provenances des parasites. Ce fait, joint aux différences morphologiques constatées, plaide pour la pluralité des parasites de ce groupe.

5° — Les épérythrozoaires, quoique dénués de tout pouvoir pathogène, sont parfaitement influencés par certains médicaments arsenicaux.

6° — Pour terminer, nous ajoutons que les parasites envisagés ne se sont pas développés dans nos essais sur les milieux de culture : gélose ordinaire, gélose au sang, liquide d'ascite gélosé, etc.

Bibliographie

Alcock (A.). — *Bartonella muris ratti* and the infectious anæmia of rats *Trop. dis. Bull.*, XXVI, 1929, p. 519-524.

Bayon (H.-P.). — *Bartonella muris*, its pathogenic action in the progressive anemia following rats splenectomy and its ressemblance to *B. bacilliformis* of Carrion's disease. *Journ. of trop. med. and hyg.*, XXXI, 1928, p. 29-36.

Brumpt (E.). — Identité des genres *Grahamella* Brumpt, 1911 et *Bartonella* Strong, Tyzzer, Brues, Sellards et Gastiaburu, 1915. *C. R. Acad. Sc.*, CLXXXVII, 1928, p. 1079.

Bruynoghe (R.) et Vassiliadis (P.-C.). — Différences entre *Bartonella muris ratti* et *Grahamella*. *C. R. Soc. biol.*, C, 1929, p. 150-152.

— L'épérythrozoaire coccoïde. *C. R. Soc. Biol.*, C, 1929, p. 763-764. et *Bull. Acad. roy. de méd. de Belgique*, 1929.

CANNON (P.-R.), TALIAFERRO (W.-H.) et DRAGSTED (L.-R.). — Anemia following splenectomy in white rats. *Proc. Soc. exper. biol. and med.*, XXV, 1928, p. 359-361.

DINGER. — *Nederl. Tijdschr. v. Geneesk.*, LXXXII, 1928, p. 5903.

GRAHAM-SMITH (G.-S.). — A new form of parasite found in the red blood corpuscles of moles. *Journ. of hyg.*, V, 1905, p. 453-458, pl. XIII-XIV.

LAUDA (E.). — Weitere Beiträge zur infektiösen Anämie der Ratte. *Centralbl. für Bakt., Orig.*, XCVIII, 1926, p. 522-526.

LAUDA (E.) et MARCUS (F.). — Zur Frage der Ratten-Bartonellen. *Centralbl. für Bakt., Orig.*, CVII, 1928, p. 104-114.

MAYER (M.), BORCHARDT (W.) et KIKUTH (W.). — Ueber Einschlüsse der Erythrocyten bei experimenteller Anämie der Ratten (Eine neue Parasitengruppe ?). *Klin. Woch.*, V, 1926, p. 559.

— Die durch Milzextirpation auslösbare infektiöse Rattenanämie (Ætiologie, Pathologie und Chemotherapie). *Arch. für Schiffs-und Trop. Hyg.*, XXXI, 1927, *Beih.* 4, p. 295-317.

NAUCK (E.-G.). — Ueber Befunde im Blut splenektomierter Nager. *Arch. für Schiffs-und Trop. Hyg.*, XXXI, 1927, p. 322-329.

REGENDANZ (P.) et KIKUTH (W.). — Sur la *Bartonella muris ratti* Mayer. *C. R. Soc. biol.*, XCVIII, 1928, p. 1578-1579.

SCHILLING (V.). — *Eperythrozoon coccoides* eine neue durch Splenektomie aktivierbare Dauerinfektion der weissen Maus. *Klin. Woch.*, VII, 1928, p. 1853-1855.

SCHILLING (V.) et SANS MARTIN (A.). — Ueber die *Bartonella*-Anämia der Ratten. Die Kulture der Erreger. Immunität und Erkrankung milzhaltiger Ratten. *Klin. Woch.*, VII, 1928, p. 1167.

SORGE (G.). — Sulle anemia da *Bartonella* dei ratti smilzati. *Biochem. e therap. sperim.*, XV, 1928, p. 161.

ZUELZER (M.). — Ueber eine Bartonella-artige Infektion der Feldmaüse (*Arvicola arvalis*). *Centralbl. für Bakt., Orig.*, CII, 1927, p. 449-452.

Institut de bactériologie de l'Université de Louvain

SUR LA PIROPLASMOSE DES OISEAUX DOMESTIQUES DÉTERMINÉE PAR *ÆGYPTIANELLA PULLORUM*

Deuxième note (1)

Par **M. CARPANO**

Cette note est le complément d'une note préliminaire intitulée : Su di un Piroplasma osservato nei polli in Egitto (*Ægyptianella pullorum* Carpano, 1928), publiée dans le *Bolletino del Ministero dell' Agricultura egiziano*, au mois de décembre 1928, et dans la *Clinica veterinaria* de cette année.

La présente note a pour but de faire connaître les résultats des recherches systématiquement poursuivies sur beaucoup d'espèces d'oiseaux domestiques et sauvages habitant l'Egypte. Ces recherches nous ont conduit à constater la présence du même hématozoaire dans un autre oiseau, l'oie, élevé en grand nombre dans ce pays.

Ce palmipède peut être atteint de piroplasmose, soit sous la forme aiguë, soit sous la forme chronique. Dans ce dernier cas la maladie peut rester, au moins chez la race indigène, complètement inaperçue, c'est-à-dire être de même nature que chez les poules.

Morphologiquement, le parasite observé chez l'oie s'est montré identique à celui que j'ai décrit dans la première note.

Il est très important de noter que chez l'oie l'*Ægyptianella pullorum* peut exister dans le sang circulant soit à l'état pur, soit associé avec *Spirochœta anserina*. Ce spirochète est pour nous absolument identique au *Spirochœta gallinarum*, comme nous l'avons dit dans la publication précédente.

La coexistence fréquente des deux agents pathogènes chez le même individu, constatée aussi chez ce palmipède, confirme notre hypothèse, d'après laquelle un seul ectoparasite vecteur, l'*Argas persicus*, très répandu sur beaucoup d'animaux domestiques, est peut-être le transmetteur commun du spirochète et du piroplasma.

Enfin, nous devons indiquer que les maladies intercurrentes, en particulier celles à virus filtrants, sont capables de déterminer chez

(1) Traduit de l'italien par le Dr Rodolfo Talice.

Annales de Parasitologie, t. VII, n° 5. — 1er septembre 1929, p. 365-366.

les poules, atteintes d'infections latentes (piroplasmose et spirochétose), une réapparition des hémoparasites correspondants.

C'est ce qu'on observe chez les poules infectées naturellement ou artificiellement de peste aviaire, surtout quand cette maladie présente une forme un peu lente. Alors il est possible d'observer le réveil du cycle d'un ou deux hématozoaires sus-indiqués. Nous avons signalé souvent le même fait pour la peste bovine et la peste équine, au cours desquelles peuvent apparaître dans la circulation divers protozoaires (piroplasmes, spirochètes, trypanosomes) qui étaient conservés jusqu'à ce moment à l'état latent.

Le Caire. Ministère de l'agriculture. Service vétérinaire.

REMARQUES SUR LA CULTURE DE *TRYPANOSOMA CRUZI* CHAGAS

Par **Henri GALLIARD**

Depuis que Chagas, en 1909, a découvert et isolé *Trypanosoma cruzi*, nombreux sont les travaux publiés sur la culture de ce flagellé, mais les différents auteurs qui ont étudié la question ne semblent pas d'accord sur un certain nombre de points. Si, par exemple, ils admettent en général avec Chagas que l'isolement à partir du sang du vertébré est facile à faire, pour les uns les subcultures sont pratiquement impossibles à obtenir et d'autres ont pu, au contraire, conserver longtemps leurs souches par repiquages successifs. On a discuté également sur la valeur respective de chaque milieu, la longévité des cultures, la signification des formes rencontrées et surtout sur la présence des formes trypanosomes, les conditions de leur production et la date de leur apparition dans les cultures. Enfin, l'étude du pouvoir infectieux a prêté à certaines controverses.

Nous avons pu obtenir des cultures de quatre souches différentes, provenant de triatomes naturellement infectés, rapportés d'Amérique du Sud par le Prof. Brumpt, et qu'il conserve également sur triatomes et sur *Rhodnius* dans son laboratoire. Ces souches nous ont servi pour des études comparatives de virulence. Ce sont : virus Cabral (*Triatoma chagasi*) (1), virus brésilien donné par le Prof. Chagas (*T. megista*), virus Uruguay (*T. rubrovaria*), virus Paraguay (*T. infestans*).

Au point de vue de la culture, ces diverses souches se comportent absolument de la même façon. Leur isolement à partir du sang du vertébré est aussi facile, la longévité est la même, et la morphologie des formes culturales est identique.

Les auteurs s'accordent pour admettre que l'isolement de *T. cruzi* est assez aisé (Chagas, 1909 ; Delanoë, 1912). Mais par contre, pour certains, les subcultures sont difficiles, sinon impossibles à obtenir (Delanoë, 1912 ; Wenyon, 1926) ; d'autres, au

(1) Espèce découverte et décrite par Brumpt et Florencio Gomez dans la Serra de Cabral (Etat de Minas Geraes). La souche est conservée à Paris depuis 1914.

Annales de Parasitologie, t. VII, n° 5. — 1er septembre 1929, p. 367-376.

contraire, les ont obtenues facilement et ont pu pratiquer un grand nombre de passages.

Les milieux employés jusqu'ici sont des plus variés. Chagas (1909) obtint la première culture dans le liquide de condensation du milieu gélosé NN, Torrès (1922) a utilisé le bouillon de sang peptoné à 5 p. 100, Nöller (1920) les plaques de gélose au sang, Niño (1929) remplace dans le milieu NNN le sang de lapin par du sang humain, Adler (1926) a obtenu de bons résultats avec un milieu gélosé et glycosé semi-fluide, avec sérum de lapin sans hémoglobine.

En principe, tous les milieux sont bons, car *T. cruzi* est un des trypanosomes qui se cultivent le plus facilement. Mais il est nécessaire, en présence de tant de techniques différentes, de faire un choix. A notre avis, les meilleurs milieux d'isolement sont les milieux liquides (NNN, bouillon-sang, etc.). Niño (1926) commence par mélanger le sang du cœur à une solution de citrate, puis ensemence ensuite ce mélange. Cette pratique est excellente et même indispensable si l'on veut isoler le trypanosome en milieu semi-solide, mais elle nous semble inutile pour la culture si le milieu est liquide.

Si ces milieux semi-solides, dont Wenyon (1921) donna la première formule et dont les milieux de Noguchi (1924), Kligler (1924), Adler (1926) sont dérivés, se prêtent mal à l'isolement, ils sont par contre excellents pour les subcultures. Le milieu au sang chauffé de Mathis nous a donné aussi de bons résultats, ainsi que le milieu de Ponselle gélatiné pour culture des trypanosomes pathogènes et le milieu de Ponselle glycosé que nous avons utilisé avec succès (1929) pour *T. inopinatum*, *T. parroti* et *T. lewisi*. Nous parlerons plus loin des résultats que nous avons obtenus avec le milieu hypotonique de Ponselle.

Pour faire des expériences d'inoculation aux animaux, nous avons cherché à obtenir des cultures très riches et persistantes. Nous avons utilisé pour cela un milieu gélosé très simple qui nous a donné d'excellents résultats. Il nous a semblé, en effet, que les milieux de Wenyon et de Noguchi sont trop fluides, et qu'il y avait intérêt à augmenter la teneur en gélose et de diminuer le taux de NaCl. De même, l'addition de glycose (comme dans les milieux d'Adler et de Kligler) favorise la culture (1) et l'utilisation de sang

(1) Nous avons utilisé la formule suivante :

Eau ordinaire	1.000 cm³
Gélose	4 grammes,
Glycose	2 —
NaCl	4 —

On ajoute dans chaque tube, au moment voulu, après fusion du mélange et

de vache au lieu de sang de lapin paraît préférable. Au bout de quelques jours, à la température ordinaire, la culture se développe avec une intensité extraordinaire et le tube présente bientôt un véritable bouchon blanchâtre qui gagne rapidement en profondeur.

Les subcultures s'obtiennent facilement, à condition de ne pas attendre trop longtemps. Lorsque la culture commence à vieillir, au bout de 3 mois environ, les repiquages sont difficiles à faire. Il y a intérêt alors à faire un passage dans un milieu différent, liquide de préférence, comme le milieu NNN par exemple.

La longévité des cultures de *T. cruzi* est également variable suivant les auteurs : Chagas (1909) trouve des formes vivantes au bout de deux mois, Torrès (1922) au bout de 49 jours, Souza Campos (1925) au bout de deux à trois mois, Niño au bout de 75 jours. En réalité, la longévité des cultures de *T. cruzi* est considérable. Avec le milieu semi-solide, nous avons pu obtenir une infection mortelle chez le rat avec une culture vieille de 6 mois.

Le cycle de l'évolution de *T. cruzi* en culture est actuellement classique. On sait que lorsqu'on ensemence du sang de vertébré infecté dans un milieu quelconque, les flagellés passent par les stades *Leishmania, Leptomonas, Crithidia* et trypanosome. Mais il est intéressant de constater qu'il n'en est plus ainsi pour les subcultures et que l'évolution est variable suivant le milieu employé. Ainsi, dans les milieux gélosés semi-solides tel celui que nous employons, on ne trouve jamais de formes *Leishmania* ou *Leptomonas*. Les formes *Crithidia* se multiplient activement aussitôt ensemencées et pullulent déjà au bout de 3 à 4 jours environ. Dans ce milieu, on ne voit jamais non plus se former de rosaces, les flagellés restant toujours libres, contrairement à ce qui se passe en milieu NNN où les rosaces se produisent dès le début et persistent jusqu'à dégénérescence complète de la culture. Il paraît difficile de déterminer les causes de la production des rosaces. Il est facile de constater qu'elles ne se forment pas en tubes NNN quand, pour une raison quelconque, le milieu est défavorable et que la culture reste pauvre. Pour Torrès (1922), la formation des rosaces se produit au contraire dans les milieux défavorables et l'acidité aurait une grande importance à ce point de vue. Mais

refroidissement à 56°, un tiers du volume de sang défibriné de vache. Il est évidemment préférable de se servir de sérum et d'y ajouter une légère quantité de sang laqué comme le préconise Noguchi, mais il faut éviter de trop nombreuses manipulations. Il est certain qu'un excès d'hémoglobine est nuisible aux cultures, mais les hématies de vache sont très résistantes à l'hémolyse et il s'en détruit juste assez pour permettre aux flagellés de se multiplier. Contrairement à Adler nous avons toujours constaté que la présence d'hémoglobine était indispensable.

nous estimons qu'il n'y a aucun rapport entre les belles rosaces régulières et typiques, et les agglutinations, les amas informes de flagellés dégénérés tels qu'on les rencontre dans les cultures se développant mal, mais qui peuvent y persister pendant des mois. Le déterminisme de la production des rosaces est donc autre car, dans le milieu semi-solide, il ne s'en produit pas davantage quand la réaction est acide. A ce propos, nous avons constamment noté que, au point de vue de la réaction et en ce qui concerne particulièrement *T. cruzi*, il fallait avant tout éviter l'alcalinité du milieu.

Mais une question particulièrement intéressante est celle des conditions de production des formes trypanosomes et du moment de leur apparition dans les cultures. Certains auteurs n'en ont jamais trouvé (Delanoë, 1912). Muniz, 1927, en a trouvé au bout de 15 jours, d'autres les ont vues apparaître au bout de 76 jours seulement (Niño, 1929). Pour M. Torrès (1922), la présence des trypanosomes est inconstante et ne peut être prise comme critérium de l'excellence du milieu. Pour Nöller, enfin, la température exerce une action prépondérante sur la production de ces formes qui apparaissent surtout après un séjour à 30°. Nous avons toujours constaté que *T. cruzi* est, avec *T. inopinatum*, un de ceux qui donne le plus facilement la forme trypanosome en culture. L'apparition de ces formes est extrêmement précoce à la température ordinaire et quel que soit le milieu employé. En milieu NNN, nous en avons trouvé en assez grand nombre à partir du neuvième jour. En milieu gélosé sucré, l'apparition est plus précoce encore (5 jours), mais il faut tenir compte d'une survivance possible, bien invraisemblable d'ailleurs, des formes ensemencées. D'autre part, la température n'a pas l'importance qu'on lui attribue. Dans tous les cas, il est préférable de ne pas dépasser 25°.

Cette question de la production des formes trypanosomes est particulièrement intéressante au point de vue du pouvoir infectieux des cultures. Pour Nöller, et son opinion est admise par la majorité des auteurs, seule la forme trypanosome est infectieuse en culture. M. Torrès (1922), se basant sur le fait que l'on peut infecter des animaux avec des cultures très récentes, prétend que la présence de cette forme n'est pas indispensable. Mais, d'après ce que nous avons observé sur la précocité d'apparition des trypanosomes, il nous semble que cet argument est sans valeur. Il est impossible d'affirmer en outre que des formes n'existent pas, même en faible quantité, dans une culture, et l'hypothèse de Nöller ne peut être infirmée par ces seuls faits. D'après ce que nous avons observé nous-même, les cultures de *T. cruzi*, du moins aux premiers passages, sont très virulentes dès le début et le demeurent indéfiniment.

Nous avons pu obtenir des infections mortelles chez le rat et la souris, en 16 et 21 jours, avec une trace de culture vieille de 6 mois et contenant de rares formes trypanosomes. Nöller (1920), après quinze passages pendant un an, réussit à infecter des souris dans les délais normaux. Mais cette question de la virulence des cultures dépasse le cadre de cette étude.

Dans les cultures, on a décrit et figuré de nombreuses formes, mais leur intérêt n'est pas considérable car, surtout en ce qui concerne les premiers stades, *Leptomonas* et *Crithidia*, on peut trouver dans les cultures récentes, et à plus forte raison dans les cultures âgées, les formes les plus variées, parfois monstrueuses, et il semble inutile de s'y arrêter: seules les formes définitives, c'est-à-dire les trypanosomes métacycliques, sont intéressantes à considérer. L'exa-

Fig. 1. — Formes métacycliques dans une culture jeune (15 jours à 18°), en milieu semi-solide.

men de cultures récentes (fig. 1), en pleine période de développement et de vitalité (15 jours à 2 mois), nous a, dans tous les cas, montré que les trypanosomes présentaient une morphologie remarquablement uniforme. Ils mesurent de 20 à 23 µ depuis l'extrémité postérieure jusqu'au bout du flagelle ; ce flagelle ne présente jamais d'extrémité libre, mais la largeur du corps et les dimensions du noyau peuvent varier suivant les spécimens. Il ne s'agit pas de polymorphisme, mais la variation est due à la technique employée, à la fixation plus ou moins rapide et parfaite. Dans un même frottis on constate, en effet, dans les parties épaisses la présence de trypanosomes étroits, filiformes, et de formes normales dans les parties minces, mieux fixées et colorées. De même le noyau qui est normalement ovale, peut dans ces formes s'étirer indéfiniment, se bilober sans que l'on puisse voir là autre chose qu'un artifice de préparation, ou une forme de dégénérescence.

Au contraire, dans les cultures très âgées (3, 4 ou 6 mois), le polymorphisme est la règle (fig. 2). A côté de *Crithidia* monstrueux, de trypanosomes normaux assez rares, on trouve des formes beau-

coup plus volumineuses, plus longues et plus larges, mesurant de 38 à 42 µ, ou bien extrêmement petites et grêles. De plus, on voit apparaître quelques rares formes avec l'extrémité du flagelle libre. C'est à ce stade de dégénérescence ou plutôt de vieillissement que l'on peut comparer le tube de culture à l'intestin postérieur du triatome. C'est à ce stade également que l'on trouve des formes particulières qui ont pu être interprétées de diverses façons : formes mâles ou femelles, formes de fécondation, etc... Il faut se défier des assimilations et des interprétations trop ingénieuses, car, dans les cultures âgées, on trouve toutes les formes imaginables si l'on se donne la peine de les chercher. Il est donc exagéré de leur attribuer une signification quelconque, autre que celle de vieillis-

Fig. 2. — Culture âgée (6 mois). Milieu semi-solide. Formes *Crithidia* monstrueuses. Grandes formes trypanosomes ; deux formes très petites avec l'extrémité du flagelle libre.

sement, et de les considérer comme l'aboutissement d'un cycle normal.

Il semble assez difficile de suivre l'évolution complète de ces formes *Trypanosoma* dans les milieux usuels et de savoir si l'on a affaire à des formes de passages ou s'il y a vraiment polymorphisme. Les cultures durent trop longtemps, même à température élevée, ce qui permet le développement de formes de dégénérescence, ou plutôt de vieillissement ; l'évolution est trop lente, le pourcentage des formes trypanosomes n'augmente guère depuis le début de la culture et à la fin ces formes deviennent très rares. Si l'on élève la température (25° à 30°), les trypanosomes ne se produisent pas en plus grand nombre et la culture dégénère rapidement.

Pour obtenir une évolution plus rapide, nous avons utilisé un milieu liquide d'une tonicité très inférieure à celle des milieux usuels, le milieu de Ponselle qui a servi à cet auteur pour la cul-

ture de *T. inopinatum* et qui est composé d'un mélange à parties égales d'eau bidistillée et de sang défibriné de lapin. Nous avons obtenu ainsi à la température ordinaire des cultures à marche rapide où le cycle d'évoluion de *T. cruzi* est pour ainsi dire schématisé. Ces cultures sont naturellement peu abondantes, mais la nature du milieu permet une fixation des préparations plus parfaite et une coloration plus facile.

Le début de la culture est assez long ; 15 jours environ après l'ensemencement, on voit apparaître des rosaces de *Crithidia*. Ces formes, très rarement libres, sont trapues, courtes, et donnent

Fig. 3. — Culture en milieu hypotonique (Ponselle). Sur la première rangée : cycle de début avec formes *Crithidia* arrondies et trypanosomes normaux ; sur la deuxième rangée, culture plus âgée : trypanosomes minces et allongés présentant de volumineux grains chromatiques à l'extrémité postérieure, deux formes *Crithidia* anormales en voie de division ; sur la troisième rangée : formes trypanosomes en voie de division, à la période de dégénérescence finale de la culture.

naissance sur place à des formes de passage puis aux formes trypanosomes. Les trypanosomes qui viennent de se former sont également courts, larges, à noyau arrondi, mesurant 13 à 15 μ, mais ils font rapidement place à des formes plus effilées, plus minces, à noyau allongé, identiques d'ailleurs aux formes adultes observées au début dans les autres cultures. Bientôt, toutes les rosaces de *Crithidia* disparaissent, et l'on ne trouve plus que des formes trypanosomes ; parfois il existe encore quelques groupes de *Crithidia*, mais composés de formes plus minces et allongées, qui finissent par disparaître à leur tour, après avoir présenté des formes de division multiples (fig. 3).

Au bout de six jours environ, les trypanosomes vont dégénérer, mais le polymorphisme que l'on constate dans les cultures âgées n'existe plus ici. Ils s'amincissent considérablement, leur noyau

s'étire, et l'on voit apparaître à la partie postérieure, en arrière du blépharoplaste, un, deux ou plusieurs volumineux grains de chromatine (1). De plus, nous avons trouvé dans les derniers jours de l'évolution culturale quelques formes ressemblant à des trypanosomes en voie de division, mais il convient d'être prudent, étant donné ce que l'on sait de *T. cruzi*, qui ne se divise jamais sous la forme trypanosome. Autant que nous avons pu nous en convaincre, ce ne sont pas des artifices de préparation ou de superposition. Peut-être, étant donnée la rapidité de l'évolution en milieu hypotonique, s'agit-il de *Crithidia* ayant subi un début de division et donné naissance hâtivement, sur place, à des formes trypanosomes avant la scission complète. Quoi qu'il en soit, cette division hâtive, anarchique si l'on peut dire, sous la forme trypanosome, est le dernier terme de la dégénérescence. Quelques heures après, aucune forme culturale n'existe plus, on ne trouve plus rien. Cette évolution rapide, par le fait même de sa courte durée, permet donc d'éliminer toutes les formes de vieillissement et de suivre tous les stades normaux, si l'on peut dire, ainsi que les formes de dégénérescence finale.

Il semble donc que l'hypotonie ait, bien plus que la température, une influence sur la production des formes trypanosomes, car dans des cultures en milieu NNN, par exemple, à aucun moment nous n'avons constaté la disparition des formes *Crithidia*, et le pourcentage des formes trypanosomes est, à la période de dégénérescence finale, nul ou sensiblement inférieur à ce qu'il était à la période d'état.

Résumé

Nous avons pu isoler en culture quatre souches différentes de *T. cruzi* (deux du Brésil, une d'Uruguay, une du Paraguay). Au point de vue cultural, elles se comportent de façon identique. Pour obtenir des cultures abondantes et d'une grande longévité (6 mois), nous avons utilisé un milieu semi-solide, type Wenyon, additionné de sucre et de sang total de vache, et constaté l'importance de la consistance du milieu (4 gr. de gélose pour 1.000), et de la diminution du taux des chlorures (4 pour 1.000), pour obtenir un développement intense et rapide de la culture.

Les formes trypanosomes se produisent de façon tout à fait constante et précoce, au neuvième jour, à la température ordinaire,

(1) Nieschultz a constaté, au contraire, dans des cultures de trypanosomes d'oiseaux, que les formes à grosses granulations donnaient naissance aux trypanosomes définitifs par élimination de leur extrémité postérieure.

parfois plus tôt quand la culture se développe rapidement dans un milieu particulièrement favorable. La température n'a pas une grande action sur la production des formes trypanosomes et ne doit en aucun cas dépasser 25°. L'évolution des formes culturales est variable suivant le milieu. Dans le milieu semi-solide que nous utilisons, les formes *Crithidia* ensemencées au cours des subcultures se divisent activement, sans jamais subir de régression aux formes *Leishmania* et *Leptomonas* et sans jamais former de rosaces, contrairement à ce qui se passe dans les milieux liquides (NNN, bouillon, sang, etc.). Dans les cultures récentes (15 jours à 2 mois) les trypanosomes présentent une morphologie singulièrement uniforme, les formes anormales que l'on a décrites provenant souvent d'artifices de préparation. Par contre dans les cultures âgées, le polymorphisme est la règle.

En utilisant des milieux hypotoniques (milieu de Ponselle), on peut obtenir, à la température ordinaire, des cultures évoluant rapidement et permettant d'observer plus nettement, par élimination des formes de vieillissement, les différents stades de l'évolution des trypanosomes métacycliques et les formes de dégénérescence, en particulier des formes de division à la période terminale. Il semble que, plus que la température, l'hypotonie du milieu de culture ait une action favorable sur la production des formes trypanosomes.

Bibliographie

Adler (S.) et Theodor (O.). — The identity of *Leishmania tropica* Wright, 1903 and *Herpetomonas papatasii* Adler, 1925. *Ann. trop. med. parasit.*, XX, 1926, p. 355.

Brumpt (E.). — Le *Trypanosoma cruzi* évolue chez *Conorhinus megistus*, *Cimex lectularius*, *Cimex boueti*, et *Ornithodorus moubata*. Cycle évolutif de ce parasite. *Bull. Soc. de Path. exot.*, V, 1912, p. 360.

— *Précis de Parasitologie*, 4e édition, Paris, 1927, p. 236.

Brumpt (E.) et Gomez (F.). — Description d'une nouvelle espèce de Triatome (*T. chagasi*) hôte primitif de *Trypanosoma cruzi* Chagas. *Ann. Paulistas de Med. e. Cir.*, II, 1914, p. 1.

Campos (E. de Souza). — Sur la paralysie des animaux (chiens, souris) infectés expérimentalement avec des cultures de *T. cruzi*. *C. R. Soc. de biol.*, LXXXIII, 1925, p. 40.

— Estudios sobre una neurotropica raça de *Tryp. cruzi*. *Ann. Fac. de med. S. Paulo*, XII, 1927, p. 197.

Chagas (C.). — Nova especie de morbida de homen produzida por un trypanosoma (*T. cruzi*). *Brasil medico*, XXIII, 1909, p. 161.

— Nova tripanosomiase humana. *Mem. Inst. O. Cruz*, I, 1909, p. 159.

— Le cycle de *Schizotrypanum cruzi* chez l'homme et les animaux de laboratoire. *Bull. Soc. Path. exot.*, IV, 1911, p. 467.

— Quelques aspects évolutifs du *T. cruzi* dans l'insecte transmetteur. *C. R. Soc. de biol.*, XCVII, 1927, p. 829.

Delanoe. — A propos du *Schizotrypanum cruzi*. *Bull. Soc. de path. exot.*, VI, 1912, p. 599.

Franchini (C.). — Sur des cultures très anciennes de flagellés. *Bull. Soc. de path. exot.*, XVII, 1924, p. 32.

Galliard (H.). — Culture des trypanosomes et en particulier *T. inopinatum* en milieu liquide sucré. *Annales de parasitologie*, VII, 1929, p. 248.

Kligler. — On the cultivation and biological characters of *Leishmania tropica*. *Amer. Journ. of trop. med.*, IV, 1924, p. 69.

Laveran et Mesnil. — *Trypanosomes et trypanosomiases*, Paris, 1912, p. 808.

Maggio (C.) et Rosenbusch (F.). — Studien über die Chagas Krankheit in Argentinien und die Trypanosomen der Vinchucas. *Centralbl. f. Bakt. Orig.*, LXXVII, 1915, p. 40.

Mathis (L.). — Sur une modification au milieu de Novy-Mac Neal pour la culture des trypanosomes. *C. R. Soc. biol.*, LXI, 1906, p. 550.

Meyer (M.) et da Rocha Lima (H.). — Zum Verhalten von *Schizotrypanum cruzi* in Warmblüten und Arthropoden. *Arch. f. Schiffs. und Trop. Hyg.*, XVIII, 1914, p. 101.

Muniz (J.). — Quelques formes intéressantes trouvées dans les cultures de *T. cruzi*. *C. R. Soc. de biol.*, XCVII, 1927, p. 821.

Nieschulz (O.). — Zur Kenntnis einiger Vögeltrypanosomen. *Arch. f. Protistenk.*, XLV, 1922, p. 241.

Nino (F.-L.). — Formas culturales de *Schizotrypanum cruzi*. *Bol. Inst. clin. quir.*, Buenos-Aires, 1926, p. 290.

— *Contribucion al estudio de la enfermedad de Chagas en la Republica Argentina*, Buenos Aires, 1929, 239 p.

Noguchi (H.). — Isolation of *Leptospira icteroides* from cases of yellow fever in the interior of Bahia. *Monograph. of Rockefeller Inst. Med. Res.*, XX, 1924, p. 9.

Nöller (W.). — Neuere Forschungen auf dem Gebiete der Trypanosomenzüchtung. *Arch. f. Schiffs. und Trop. Hyg.*, XXIV, 1920, p. 168.

— Die Züchtung der parasitischen Protozoen. *Handb. Path. Protoz.*, III, 1928. p. 1906.

Ponselle (A.). — La culture de *Trypanosoma inopinatum*, trypanosome pathogène de la grenouille. *Ann. de parasit.*, I, 1923, p. 155.

Torres (C.-M.). — Cultura do *Schizotrypanum cruzi* Chagas, 1920 en meio liquido. Influencia da concentraçao dos ions de hydrogenio sobre a cultura. Verificaçao precoce do *Schizotrypanum* no sangue. *Brasil medico*, 1922. p. 317.

Wenyon (C.-M.) — *Protozoology*. London, 1926, cf. I, p. 493.

— *Trans. Roy. Soc. Trop. Med.*, XV, 1921, p. 153.

Laboratoire de parasitologie de la Faculté de Médecine de Paris.

ENVAHISSEMENT PRÉCOCE ET INTENSE DE LA CAVITÉ ABDOMINALE CHEZ LA SOURIS AU COURS DES INFECTIONS A *TRYPANOSOMA CRUZI*

Par **Henri GALLIARD**

Au cours d'expériences d'inoculation de cultures de *Trypanosoma cruzi*, nous avons observé quelques faits intéressants au point de vue de l'évolution de l'infection chez le rat et la souris. Nous avons utilisé pour nos expériences un virus provenant de *Triatoma rubrovaria*, naturellement infectés, capturés aux environs de Montevideo (Uruguay) par le Prof. Brumpt. Les cultures inoculées en étaient au onzième passage.

En recherchant quelle pouvait être l'évolution et la destinée des formes culturales inoculées dans le péritoine, nous avions remarqué qu'au bout de douze heures on ne retrouvait plus rien. Mais en ponctionnant le péritoine au bout de 48 heures, nous avions trouvé dans l'exsudat, assez abondant à ce moment, des formes trypanosomes rares d'abord, puis dont le nombre augmenta rapidement les jours suivants. Nous avons pensé tout d'abord qu'il s'agissait d'une multiplication intra-péritonéale des formes de culture, telle qu'on la constate dans le cas de *T. lewisi*. Mais les trypanosomes étaient bien des formes sanguicoles et n'avaient plus rien de commun avec les trypanosomes métacycliques des cultures.

Pour trancher la question, nous avons inoculé une culture sous la peau du dos des animaux, rats et souris, et au bout du même laps de temps, quarante-huit heures, nous avons vu débuter l'infection péritonéale, qui évolua d'une façon absolument identique. Par conséquent, le lieu de l'inoculation n'a aucun rapport avec la rapidité de l'apparition et la localisation précise de l'infection et il s'agit donc bien d'un tropisme tout à fait particulier qui attire de façon précoce les trypanosomes dans la cavité péritonéale.

L'évolution de l'infection est variable. Chez le rat, elle est peu marquée, passe par un maximum, puis disparaît au bout de quelques jours, quelle que soit l'issue de la maladie, pour reparaître parfois encore faiblement, à la période terminale. Il n'y a donc chez le rat aucun parallélisme entre l'infection péritonéale et l'infection sanguine. Chez la souris, au contraire, l'infection existe

Annales de Parasitologie, t. VII, n° 5. — 1er septembre 1929, p. 377-380.

dans la totalité des cas ; elle évolue de façon régulière et progressive et au bout de quelques jours elle devient d'une intensité extraordinaire, avant même que les trypanosomes aient commencé à apparaître dans le sang périphérique, à tel point que la mort peut survenir sans infection apparente. Nous avons observé depuis longtemps, en effet, que les souris en expérience meurent parfois subitement au bout d'un temps plus ou moins long, sans avoir jamais présenté de trypanosomes dans le sang, et les faits précédents suffisent peut-être à expliquer cette particularité.

Nous avons observé deux cas particulièrement démonstratifs à cet égard. Dans le premier cas, ayant inoculé une culture sous la peau d'un rat et d'une souris, nous avons vu le rat mourir au bout de quatorze jours, avec infection sanguine intense mais sans trace d'infection péritonéale. Au contraire, la souris mourut le dix-huitième jour, après avoir présenté depuis le début une infection péritonéale qui devint considérable au cours des quatre derniers jours (150 trypanosomes par champ, 300 diam.). Les trypanosomes étaient très rares (1 par 10 champs) dans le sang périphérique et un peu plus abondants dans le sang du cœur (un par champ). Dans le second cas, une souris inoculée mourut le quatorzième jour avec de très nombreux trypanosomes dans le péritoine, mais sans trace d'infection dans le sang périphérique et le cœur.

Les résultats sont à peu près les mêmes quand, au lieu de cultures, on inocule des formes sanguicoles, mais l'apparition de l'infection est un peu retardée (3 à 5 jours) ; quand on utilise l'exsudat péritonéal riche en trypanosomes, l'infection est précoce (1 à 2 jours) et plus intense. Au contraire, après inoculation du contenu de l'intestin postérieur de triatomes, l'infection est très lente à se produire.

En ce qui concerne le péricarde, il semble que la localisation des trypanosomes y est plus tardive et plus inconstante que dans le péritoine, surtout chez la souris. L'infection péricardique peut exister aussi, indépendamment de la présence de trypanosomes dans le cœur.

Dans deux cas, chez la souris, nous avons trouvé le tissu cellulaire sous-cutané de la paroi thoracique et abdominale distendu par une sérosité claire, sans aucun élément figuré, mais contenant de nombreux trypanosomes.

Comment expliquer cette localisation des trypanosomes dans le péritoine et surtout la précocité de l'infection ? Il s'agit peut-être d'un tropisme particulier qui attire les trypanosomes dans la cavité péritonéale au fur et à mesure de leur formation dans les fibres musculaires. Mais il y a également un développement local

plus intense : au bout de 10 jours, chez la souris, on trouve de très rares formes *Leishmania* dans les fibres cardiaques et le diaphragme, un peu plus abondantes dans les muscles thoraciques et extrêmement nombreuses dans les muscles abdominaux. Il est certain également qu'il y a un développement au niveau de la séreuse elle-même, comme il est facile de s'en assurer par de simples frottis par apposition de la face interne de la paroi abdominale : on y trouve de très nombreuses formes *Leishmania* et surtout *Leptomonas*. Nous n'avons jamais vu ces formes en liberté dans le liquide péritonéal, mais des cellules endothéliales ou des macrophages remplis de ces corps leishmaniformes qui peuvent être considérés également comme des trypanosomes phagocytés et dégénérés. De plus, l'évolution des formes dans le péritoine semble être la même que dans le sang : formes rapides et grêles au début, puis formes âgées demeurant sur place. Il semble qu'il y ait indépendance absolue dans la marche de cette infection, car on trouve depuis longtemps des formes âgées dans le péritoine, alors que les formes jeunes commencent seulement à apparaître dans le sang périphérique. Cette indépendance est telle que la mort peut survenir, comme nous l'avons dit, avant la généralisation de l'infection.

Clapier (1921) a signalé deux cas où il avait trouvé chez l'homme de nombreuses formes de *T. gambiense* dans du liquide d'hydrocèle. Plus récemment, Peruzzi a décrit plusieurs cas d'infection du péricarde, du péritoine et des vaginales, chez des singes inoculés avec des trypanosomes d'origine humaine ou animale (types *brucei* et *rhodesiense*).

En ce qui concerne *T. cruzi*, il nous semble que la littérature ne signale aucun fait semblable, qu'il s'agisse d'infection humaine ou animale, naturelle ou expérimentale. Nous espérons pouvoir donner bientôt le détail de nos expériences et les conclusions de nos recherches non achevées encore.

Résumé

Chez le rat et la souris, inoculés avec *Trypanosoma cruzi*, on observe, quel que soit le point d'inoculation, un envahissement précoce et intense de la cavité péritonéale par des formes trypanosomes identiques aux formes sanguicoles ; la mort peut même survenir avant l'apparition de ces dernières. Il y a de nombreuses formes de développement dans les muscles abdominaux (*Leishmania*) et dans la séreuse (*Leishmania* et *Leptomonas*).

Bibliographie

Clapier (P.). — Constatation de *Trypanosoma gambiense* en grande abondance dans le liquide d'hydrocèle. *Bull. Soc. path. exot.*, XIV, 1921, p. 378.

Peruzzi (M.). — Observations anatomo-pathologiques et sérologiques sur les trypanosomiases. — *Rapport de la comm. internat. de la Soc. des Nations pour l'étude de la maladie du sommeil*, Genève, 1927.

Laboratoire de parasitologie de la Faculté de médecine de Paris.

CONTRIBUTION A L'ETUDE DES TUMEURS IRRITATIVES BÉNIGNES ET MALIGNES PRODUITES PAR LES BILHARZIES (1)

Par M.-F. SOROUR

Les œufs de bilharzies se trouvent dans beaucoup d'organes et de tissus. Ils y produisent des lésions variées, mais qui toutes consistent en une néo-formation de tissu.

L'irritation bilharzienne n'est pas seulement mécanique, mais elle est sûrement aussi toxique, comme cela a été démontré dans une série d'expériences faites en 1921 ; à ce moment, nous avions injecté de nombreux œufs à éperon terminal, lavés, dans la veine de l'oreille d'un lapin ; la même quantité d'œufs provenant de la même source avait été injectée dans la veine de l'oreille d'un autre lapin, mais ces œufs avaient été chauffés à 55° pendant 10 minutes, de façon à tuer les embryons à l'intérieur des œufs qui restèrent intacts. En tuant les deux lapins une semaine après, nous avons trouvé les poumons du lapin injecté avec les œufs non chauffés, bourrés de tubercules bilharziens. Ces tubercules étaient formés, au centre, d'un amas d'œufs englobés dans un nodule constitué par des cellules endothélioïdes, des cellules géantes et des éosinophiles. Au contraire, les poumons du lapin injecté avec les œufs chauffés ne présentaient pas de lésions.

De plus, en broyant des bilharzies dans de l'eau salée, en filtrant, puis en injectant un peu du filtrat dans le tissu sous-cutané d'un cobaye, un nodule dur se forma au bout de quelques jours au lieu de l'injection. Il était constitué par des cellules endothélioïdes, des cellules éosinophiles et des fibroblastes ramifiés.

L'étendue des tissus néo-formés dans les lésions ordinaires de la bilharziose donnent à l'observateur l'impression de la puissance du facteur bilharzien en tant que stimulant et irritant des tissus. Les grands papillomes de l'intestin et de la vessie, les énormes masses fibreuses sub-péritonéales et péritonéales, les tumeurs fibreuses du cordon spermatique, de l'épididyme et du ligament large de l'utérus

(1) Travail traduit de l'anglais par J. Savouré.

Annales de Parasitologie, t. VII, n° 5. — 1er septembre 1929, p. 381-398.

fournissent tous des exemples montrant la quantité de tissu néoformé qui peut être produite par l'irritation bilharzienne.

C'est pourquoi on ne s'étonne pas que ce puissant agent irritant puisse quelquefois créer une formation néoplasique qui continue à croître pour son propre compte et indépendamment de l'irritation parasitaire initiale.

Avant d'aborder l'étude des complications néoplasiques de la bilharziose, nous croyons bon de rappeler, dans les lignes qui suivent, d'une part, les lésions habituelles du tube digestif, et, d'autre part, celles de la vessie.

I. — BILHARZIOSE DU TUBE DIGESTIF

Dans la bilharziose des organes creux limités par des muqueuses, la *muscularis mucosæ* doit être considérée comme une ligne de démarcation importante parce que nous distinguons nettement ce que nous appelons le dépôt d'œufs au-dessus et au-dessous de cette couche musculaire.

A. — Infection de la partie située au-dessus de la *muscularis mucosæ*. — Il est certain que le tissu altérable et fragile qui se trouve au-dessus de la *muscularis mucosæ* est plus facilement envahi par les œufs de bilharzies qui contribuent à la néo-formation d'un tissu granuleux abondant et très vascularisé. Ce tissu se développe au-dessus de la surface plane en soulevant les éléments épithéliaux. Ce tissu bilharzien granuleux, bourré d'œufs, continue à s'accroître aussi longtemps que les éléments épithéliaux, qui se trouvent au-dessus de lui, demeurent inaltérés.

Ces faits sont parfaitement exacts en ce qui concerne la formation des papillomes bilharziens dans le gros intestin, la vessie urinaire, les uretères et le vagin. Ces papillomes ne restent pas longtemps sans subir d'altérations. Car, tôt ou tard, et cela dépend de la vascularisation du papillome, les éléments de ce dernier deviennent fasciculés et se brisent. Ils provoquent l'infection du corps du papillome et bientôt la dislocation du tissu de granulation vascularisé qui tombe dans la lumière ou la cavité des organes atteints, avec les éléments du tissu dissocié.

Ainsi s'expliquent à la fois l'émission des œufs de bilharzies, le sang et les cellules de pus que l'on trouve dans les excreta de l'intestin et dans les conduits uro-génitaux atteints par la bilharziose. Dans l'intestin grêle, néanmoins, les œufs de bilharzies ne se trouvent jamais, d'après mes travaux, à la partie supérieure de la *mus-*

cularis mucosæ. D'où l'absence ou la rareté des papillomes en voie de croissance dans cette partie du tube digestif. Alors que les papillomes bilharziens sont intacts, les éléments épithéliaux qui les recouvrent peuvent s'épaissir et s'entasser. En considérant les nombreuses observations, il est très possible que le tissu de granulations bilharzien et vascularisé, qui s'est transformé en papillomes, puisse pénétrer dans le revêtement épithélial par effraction et qu'en poussant plus haut, il quitte la muqueuse au niveau du pourtour de la collerette du pédicule. On voit que la surface de ce papillome incomplet (ce qui veut dire sans revêtement épithélial) est parfaitement inaltérée et même limitée par du tissu conjonctif condensé et jeune.

Naturellement, cette surface papillomateuse se présente sous cet aspect avant que l'infection secondaire la disloque et l'ulcère. Ces papillomes incomplets sont cependant rares.

B. — Infection de la partie située au-dessous de la *muscularis mucosæ*. — Nous trouvons des lésions provenant du dépôt d'œufs de bilharzies au-dessous de la *muscularis mucosæ*. Elles consistent en un tissu de granulations bilharzien mélangé à une infiltration de plasmocytes et à une accumulation d'éosinophiles. Tous ces éléments forment ce que nous appelons une lésion sous-muqueuse en plateau qui peut exister avec un revêtement muqueux inaltéré épaissi ou hypertrophié ; ce revêtement peut à son tour devenir fasciculé et lâche et donner libre accès à l'infection secondaire, ayant pour résultat l'ulcération qui peut atteindre directement le tissu de granulation de la sous-muqueuse bilharzienne ; d'où sa dislocation avec émission de sang, d'œufs de bilharzies et de pus. Telle est la pathologie des ulcères bilharziens. Ceux-ci sont cependant des ulcères bilharziens primitifs, par comparaison avec les ulcères bilharziens secondaires qui ne sont autres que des ulcérations ayant survécu à la dislocation complète et à la chute des papillomes bilharziens.

Si aucune altération ne se produit dans le revêtement épithélial d'une lésion sous-muqueuse bilharzienne aplatie, son tissu de granulations subit la transformation fibreuse, avec disparition graduelle des éosinophiles et des plasmocytes. Les œufs de bilharzies eux-mêmes, entourés de tissu fibreux adulte, meurent et se calcifient graduellement. Ceci, cependant, se produit plus fréquemment dans la vessie et dans l'appareil urinaire que dans le tube digestif ; ce qui veut dire que l'on voit des œufs calcifiés dans les lésions anciennes de l'intestin, mais en nombre bien moins grand que dans l'appareil urinaire.

Nous insistons maintenant sur le fait que dans le tissu de granulations, renfermant des papillomes à tendance infiltrante, on ne

trouve pas d'éosinophiles. Le contenu de ce tissu de granulations envahissant consiste en un nombre variable de capillaires dilatés, à paroi mince, enfouis dans un tissu cellulaire abondant, dont les éléments sont des plasmocytes avec quelques cellules plus grandes d'aspect endothélial ; ces cellules prennent quelquefois la forme de cellules géantes, assez irrégulièrement hémorragiques. Tandis que dans le cas où les œufs se trouvent au-dessous de la *muscularis mucosæ*, où le tissu de granulations n'est pas si actif, on observe des éosinophiles qui sont en vérité très entassés. D'après des observations innombrables, nous concluons que l'accumulation locale d'éosinophiles autour des œufs de bilharzies, dans un tissu, marche de pair avec le processus de transformation fibreuse. Une fois le processus terminé et achevé, temps durant lequel les œufs ont vieilli, sont morts et se sont calcifiés graduellement, les éosinophiles quittent de nouveau leur place et disparaissent.

C. — Bilharziose de l'appendice. — Dans la région appendiculaire, les œufs de bilharzies forment des nodules durs et fibreux dans le tissu sub-péritonéal situé autour de l'appendice. Au-dessous de la *muscularis mucosæ*, un dépôt considérable d'œufs apparaît et produit une dégénérescence fibreuse qui épaissit un peu le tissu sous-muqueux au niveau de la couche musculaire. Dans un cas, une grave hémorragie interstitielle s'était déclarée dans le tissu de granulations bilharzien, tout autour de l'appendice, ce qui donna naissance à des symptômes aigus, nécessitant l'ablation de l'organe ; celui-ci fut trouvé seulement infecté par la bilharziose, hémorragique mais non septique.

D. — Bilharziose péricolique. — La bilharziose intestinale n'est pas limitée à la muqueuse de l'intestin. Les vers bilharziens déposent rarement leurs œufs dans la paroi musculaire, contractile et pleine de vie de l'intestin, mais fréquemment, en plus grand nombre, dans les tissus conjonctifs sub-péritonéaux. Dans ce cas, l'irritation forme des masses énormes le long du côlon. Elles se modèlent autour d'une grosse partie de sa circonférence et s'étendent sur une longueur de 15 centimètres de son parcours. Il peut y avoir plusieurs de ces formations massives le long du côlon et spécialement sur l'anse sigmoïde et le côlon descendant.

Dans le tissu sub-péritonéal, les œufs de bilharzies, dont la plus grande quantité sont à épine latérale mais qui peuvent être aussi des œufs de *Schistosoma hæmatobium* à éperon terminal, paraissent produire deux variétés d'altérations histologiques :

I. — Un tissu à granulations assez vascularisé qui consiste en des plasmocytes et des fibroblastes avec absence fréquente de cellules

géantes et d'éosinophiles, en dépit de la présence d'œufs qui paraissent bien colorés et fixés en état de vie.

II. — Les œufs de bilharzies, dans la seconde variété de lésion, sont disposés isolément ou par groupe de deux ou trois. Ils sont immédiatement entourés d'une zone épaisse de larges cellules endothéliales qui se touchent par leurs tractus et leurs prolongements protoplasmiques, de telle manière qu'elles ressemblent quelquefois à des masses syncitiales. Dans de nombreux cas, ces cellules sont presque fusionnées et forment de grandes cellules géantes entourant complètement ou en partie les œufs de bilharzies qui sont au milieu d'elles.

Ces noyaux endothéliaux sont enfouis dans un feutrage de tissu fibreux, bien constitué, infiltré fortement ou faiblement par les éosinophiles. En des points ainsi lésés, les œufs de bilharzies meurent et sont dévorés graduellement par les cellules géantes, tandis que la zone à cellules endothéliales dégénère et forme un cercle hyalin de tissu, semblable au tissu hyalin spécifique que l'on trouve dans les lésions de dégénérescence fibreuse de la bacillose, tissus que l'on suppose tirer aussi leur origine des éléments épithéliaux.

Les cellules géantes disparaissent également lorsque la gangue fibreuse qui les entoure se densifie et devient plus dure. On note la complète disparition des éosinophiles.

En comparant la tuberculose, la maladie de Hodgkin et la bilharziose, on trouve que les toxines des trois agents déterminant ces affections accroissent la prolifération endothéliale et la formation de cellules multinucléées. Les toxines de la maladie de Hodgkin et de la bilharziose produisent localement l'accumulation de cellules éosinophiles.

Dans la maladie de Hodgkin et dans la bilharziose, où il y a une éosinophilie locale, la tendance à la dégénérescence fibreuse des éléments épithéliaux est très nette, tandis que dans la tuberculose, où il n'y a pas d'éosinophilie locale, on note la tendance à la caséification et à la destruction des éléments endothéliaux.

II. — BILHARZIOSE VÉSICALE

Nous considérons encore ici la *muscularis mucosæ* comme étant une ligne de démarcation très importante puisque nous distinguons:

A. L'infection au-dessus de la *muscularis mucosæ*.
B. L'infection au-dessous de la *muscularis mucosæ*.

C. L'infection mixte, à la fois au-dessus et au-dessous de la *muscularis mucosæ*.

D. L'infection de la paroi musculaire fréquemment associée à l'infection des couches ci-dessus désignées.

A. — Dans l'infection localisée au-dessus de la *muscularis mucosæ*, si les œufs sont uniformément répartis, nous trouvons du tissu cellulaire diffus et un tissu de granulations bien vascularisé. Les cellules sont formées de plasmocytes, de quelques fibroblastes et dans les cas récents on ne trouve pas d'éosinophiles. Le revêtement épithélial, tout en restant intact, s'épaissit et s'hypertrophie.

Tôt ou tard, la surface de l'épithélium devient fasciculée et moins dense, se rompt et donne le champ libre à l'infection mixte. Celle-ci atteint le tissu de granulations, vasculaire, cellulaire et renfermant des œufs de bilharzies, en causant sa rupture et en provoquant l'émission du sang et des œufs. S'il arrive qu'une telle lésion soit moins vascularisée, il ne survient pas de fasciculation ni de rupture d'épithélium. Le résultat est que les éosinophiles commencent à s'accumuler dans le tissu cellulaire granuleux, la dégénérescence fibreuse apparaît, le tout étant protégé par le revêtement épithélial intact et épaissi. La lésion produite dans ces cas a la forme d'un « plateau » en raison de la distribution des œufs répartis également et uniformément. Si, dans une semblable lésion de la partie supérieure de la *muscularis mucosæ*, les œufs de bilharzies se trouvent en plus grand nombre dans un ou plusieurs foyers, l'irritation locale devient excessive et produit un trouble dans l'équilibre des tissus. Des papillomes surgissent à ces endroits et ceci explique pourquoi une lésion bilharzienne est plane tandis que l'autre est papillomateuse. Il va sans dire que dans une vessie on peut trouver des lésions planes et papillomateuses côte à côte. Les papillomes naissants repoussent devant eux le revêtement épithélial et continuent à croître aussi loin que les conduit le processus irritatif, tant que le revêtement épithélial est intact. Si l'épithélium reste inaltéré pendant longtemps, des éosinophiles apparaissent et le tissu de granulations, qui forme le centre du papillome, se transforme graduellement en tissu fibreux. Si toutefois, en raison de la vascularisation excessive du centre cellulaire, la fasciculation et la rupture de l'épithélium se produisent, l'infection mixte provoque dans le papillome la rupture du tissu de granulations, du tissu vasculaire à œufs de bilharzies, avec émission dans la cavité vésicale de sang et d'œufs mélangés à du pus en quantité variable.

B. — Dans le cas où les œufs de bilharzies se trouvent sous la *muscularis mucosæ*, le tissu de granulations subit la dégénérescence

fibreuse, puis les œufs meurent et se calcifient. L'épithélium s'épaissit au niveau de la lésion sous-muqueuse aplatie.

Lorsque les œufs se trouvent au-dessus de la *muscularis mucosæ*, le tissu de granulations, s'il se présente en grande quantité, infiltre les masses épithéliales de la muqueuse vésicale, en forme d'U, emportant les œufs directement à la surface.

C. — Si les œufs occupent à la fois la partie inférieure et supérieure de la *muscularis mucosæ*, on trouve la combinaison des deux types de lésions ci-dessus mentionnés.

S'il y a très peu d'œufs et s'ils sont situés seulement au-dessus de la *muscularis mucosæ*, il se forme un tissu de granulations peu vascularisé. Alors la surface de l'épithélium ne subit pas d'altérations, ne devient pas fasciculée et ne se rompt pas ; elle supporte le processus irritatif, prolifère et s'épaissit. Les masses épithéliales, en forme d'U, de la muqueuse vésicale, s'agrandissent en tout sens et prennent l'aspect précancéreux.

Les cellules lymphoïdes s'accumulent en de nombreux endroits des anses épithéliales, en forme d'U, et sont le point de départ fréquent d'épithéliomas.

D. — Dans le cas où les œufs de bilharzies se trouvent dans la couche musculaire, les fibres musculaires grossissent, deviennent vacuolaires et leurs noyaux se colorent faiblement. Finalement elles disparaissent et sont remplacées par du tissu fibreux. Tel est le processus qui, lorsqu'il est généralisé à tout le muscle vésical, conduit à la contraction permanente de la vessie, à son épaississement fibreux et à sa rétraction. Telle est la complication bilharzienne très commune qui atteint la paroi vésicale. Dans ces cas, si les couches supérieures de la *muscularis mucosæ* sont vierges ou moyennement infectées par les œufs de bilharzies, les éléments épithéliaux ne sont pas altérés mais ils s'épaississent ; le tissu à granulations se vascularise, les dissocie et l'ulcération se produit. En plus du tissu granuleux bilharzien, nous trouvons des papillomes véritablement néoplasiques, dans le cas où les bilharzies sont réparties en un foyer unique, à la partie supérieure de la *muscularis mucosæ*.

Dans un cas semblable, mais dans un endroit où les œufs se trouvaient en plus grande abondance, au-dessous et à une certaine distance de la *muscularis mucosæ*, on pouvait observer, à l'opposé de cet important amas d'œufs, la présence d'une couche d'épais tissu conjonctif se divisant en des papillomes bénins très composés, se dichotomisant eux-mêmes en de fines racines recouvertes d'un revêtement inaltéré d'une ou de plusieurs couches épithéliales, souvent en forme de colonnes. Pour nous, ce ne sont pas des papillomes

bilharziens provenant du tissu granuleux, mais des papillomes néoplasiques.

Fréquemment il arrive que les grandes masses d'œufs de bilharzies se trouvent à la partie inférieure de la *muscularis mucosæ*. Ce tissu est étouffé mécaniquement par une atmosphère très toxique. Le résultat ne tarde pas à se produire ; ce tissu se mortifie peu à peu en réagissant plus ou moins. Les myriades d'œufs bilharziens que l'on trouve dans le tissu mortifié meurent aussi, se calcifient et se trouvent entourés de tissu peu fibreux, ce qui donne naissance en définitive aux « sandy patches » (taches de sable) que l'on découvre communément dans les vessies bilharziennes, quelquefois aussi, mais rarement, dans l'intestin. Les couches épithéliales supérieures meurent bientôt, se ratatinent et tombent complètement, en laissant une membrane transparente sur les œufs calcifiés ; de là provient la couleur jaune sale des « sandy patches ».

III. — COMPLICATIONS NÉOPLASIQUES DES BILHARZIOSES

Les néoplasmes produits par les bilharzies peuvent être bénins ou malins.

A. — RÉACTIONS BÉNIGNES

1°. — On trouve souvent des papillomes composés bénins dans le côlon, le rectum et la vessie. Ils consistent en une tige épaisse de tissu fibreux qui se ramifie en d'innombrables petites racines recouvertes d'une ou de plusieurs couches d'épithélium. Dans le corps des papillomes, on ne trouve pas d'éléments inflammatoires bilharziens ni d'œufs de bilharzie. Ces œufs existent seulement dans la paroi de l'intestin ou de la vessie, à la base de la tige du papillome où ils produisent l'irritation qui a donné naissance au papillome néoplasmique.

2°. — On note aussi des formations adéno-papillomateuses diffuses dans la muqueuse de l'anse sigmoïde, tout autour de sa lumière et sur une assez grande longueur. Le côlon sigmoïdien ressemble à une corde dure et, étant donnée l'obstruction de sa lumière par les formations adéno-papillomateuses, on pourrait croire à une tumeur maligne de cette partie de l'intestin. Histologiquement, on trouve quelques œufs de bilharzies dans la sous-muqueuse, tandis que toute la muqueuse est épaissie par des formations adéno-papilloma-

teuses ramifiées, diffuses et enchevêtrées, qui ne contiennent ni œufs de bilharzies, ni éléments inflammatoires cellulaires d'origine bilharzienne.

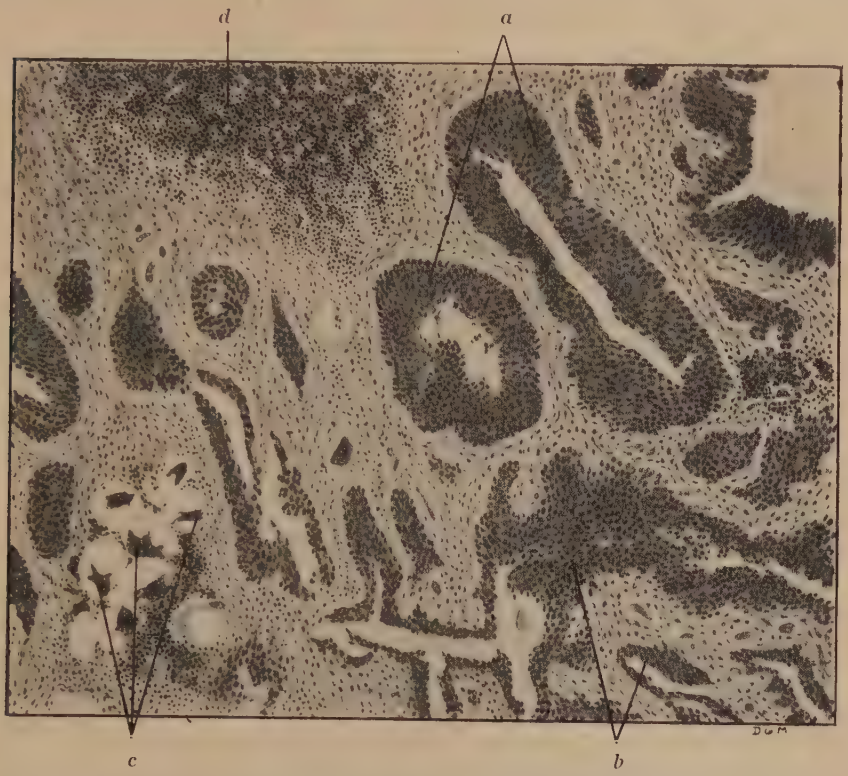

FIG. 1. — Etat précancéreux. Prolifération de l'épithélium vésical pénétrant déjà dans les couches sous-muqueuses sous forme de boyaux pleins ou à centres dégénérés. *a*, invagination épithéliomateuses de la muqueuse ; *b*, boyau néoplasique plein ; *c*, débris d'œufs calcifiés entourés d'une réaction inflammatoire ; *d*, infiltration inflammatoire banale.

B. — NÉOPLASMES IRRITATIFS MALINS BILHARZIENS

Les tumeurs malignes suivantes ont été rencontrées accompagnant la bilharziose :

1° Trois variétés différentes de carcinome de la vessie.
2° Sarcome de la vessie.
3° Endothéliome de la vessie.
4° Endothéliome nodulaire multiple du péritoine.
5° Adéno-carcinome du rectum.
6° Cancer de l'uretère.

Parmi les observations innombrables de tumeurs dues à l'irritation bilharzienne, nous devons appuyer sur ce fait que les œufs de bilharzies, de quelque variété qu'ils soient, que nous avons rencontrés dans ces lésions malignes, ne sont jamais entourés par les éléments inflammatoires habituels dans la bilharziose si ce n'est occasionnellement par quelques éosinophiles. L'exacte signification

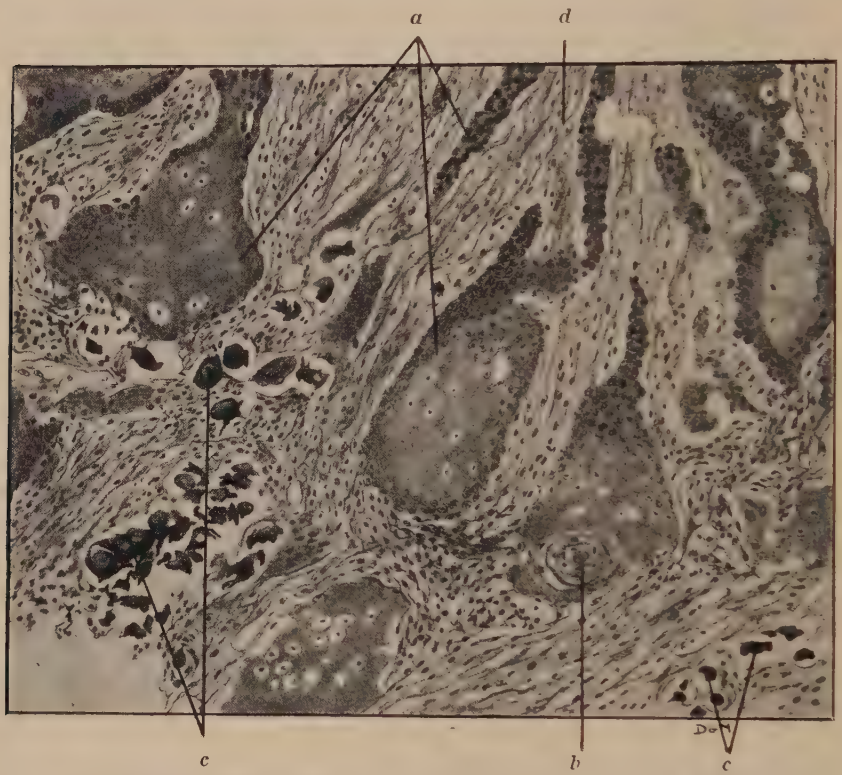

Fig. 2. — Epithélioma malpighien spinocellulaire de la vessie. *a*, lobules épithéliomateux spinocellulaires; *b*, globe épidermoïde; *c*, *c*, débris d'œufs calcifiés; *d*, stroma conjonctivo-musculaire de la paroi vésicale.

de ce fait est difficile à expliquer. Mais il est possible que les éléments cellulaires inflammatoires de la bilharziose, particulièrement les cellules endothélioïdes, les cellules géantes et les éosinophiles qui entourent les œufs, agissent comme un bouclier, atténuent et détruisent la puissante toxine bilharzienne qui irrite les tissus et limitent ainsi la réaction des tissus aux lésions inflammatoires ordinaires de la bilharziose. Peut-être aussi ces éléments inflammatoires bilharziens n'étant plus accumulés autour des œufs, leurs toxines

puissamment irritatives agissent en toute liberté sur les tissus et y produisent une réaction à forme d'irritation néoplasique.

Le cancer de la vessie par irritation bilharzienne est une complication commune en Egypte. Ces tumeurs se développent habituellement sur le trigone ou sont rejetées sur un côté ; elles atteignent souvent une dimension telle qu'elles remplissent toute la cavité de

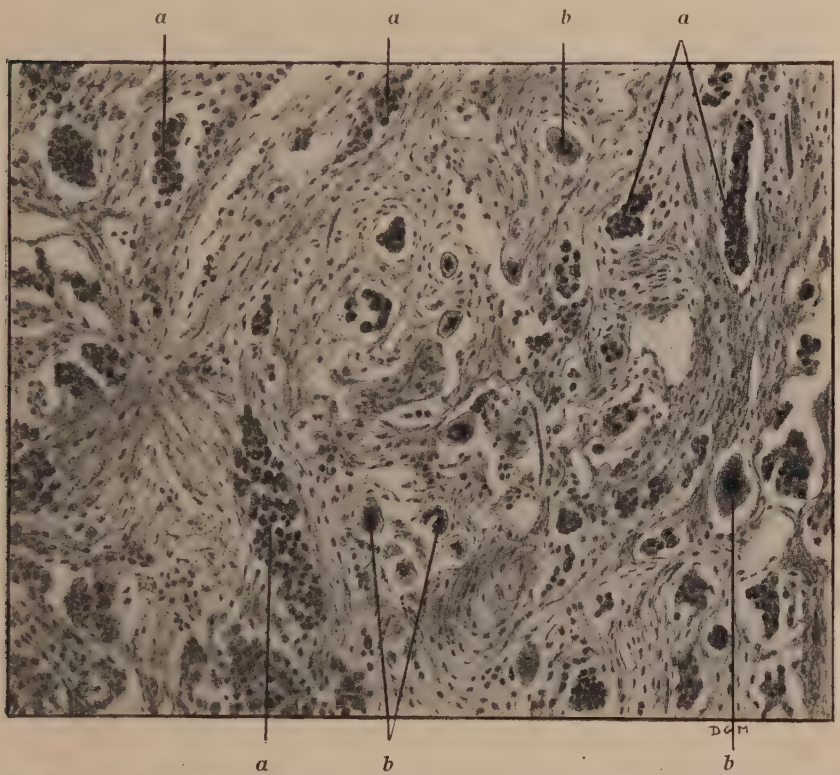

Fig. 3. — Epithélioma atypique de la vessie, forme scléreuse. *a*, *a*, *a*, *a*, boyaux épithéliomateux à cellules indifférenciées ; *b*, *b*, *b*, œufs de *Schistosoma hæmatobium*.

l'organe. Elles sont alors capables d'obstruer un ou même les deux uretères, produisant leur dilatation et une hydro-pyonéphrose qui hâte la mort.

La vessie cancéreuse peut former des adhérences malignes avec les anses intestinales ou avec la paroi abdominale antérieure qui peut s'ulcérer et produire des fistules. Ces adhérences peuvent envahir la paroi musculaire de la vessie et produire des métastases dans le péritoine qui la recouvre, ainsi que dans les ganglions pel-

viens. Ferguson (1911) (1) a trouvé des métastases jusque dans le muscle cardiaque. Ces cancers tendent à s'accroître à l'intérieur des vaisseaux sanguins et nous les avons trouvés le long des nerfs de la paroi vésicale.

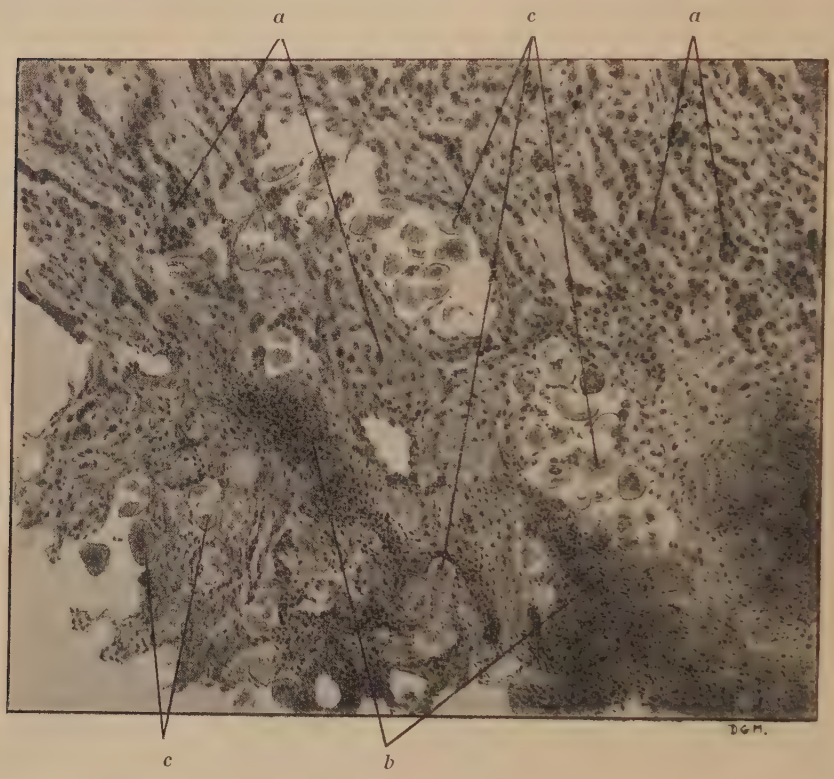

Fig. 4. — Endothéliome de la vessie, d'origine vasculaire. *a*, *a*, masses de cellules endothéliales ; *b*, zones nécrotiques avec débris nucléaires ; *c*, œufs de bilharzies.

I. Variétés de cancers bilharziens vésicaux

A. Epithéliomas. 1° Epithélioma typique, semblable à ceux que l'on rencontre à la lèvre et à la langue, formés de nids cellulaires typiques. La tumeur peut être une masse solide, semblable à un chou-fleur, formée de masses épithéliales envahissant les couches musculaires.

2° Un squirrhe, type de cancers consistant en de grandes cellules

(1) Ferguson (A.-R.). — Associated bilharziosis and primary malignant disease of the urinary bladder. *Journ. Path. and Bact. Cambridge*, XVI, 1911, pp. 76-94.

épithéliales disposées par groupes et par colonnes, de nature non squameuse et entourées d'une grande quantité de tissu fibreux bien caractéristique, dans lequel existent de nombreux œufs de bilharzies à épine terminale (*Schistosoma hæmatobium*) paraissant vivants.

3° Un cancer à cellules très molles avec très peu de tissu conjonc-

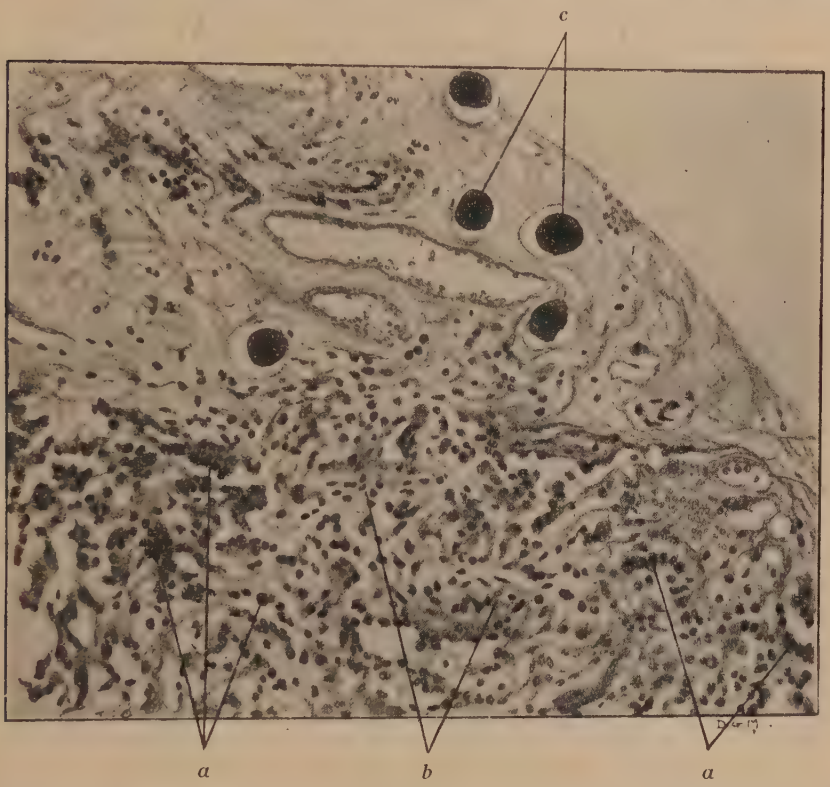

FIG. 5. — Tumeur vésicale. Atypie totale des formations néoplasiques. — La fixation défectueuse a provoqué la rétraction et l'isolement des cellules néoplasiques qui simulent des cellules sarcomateuses. Il s'agit plutôt d'un épithélioma atypique comme dans la fig. précédente. *a*, *a*, boyaux néoplasiques; *b*, stroma conjonctif; *c*, œufs calcifiés.

tif et très peu de fins capillaires. Les cellules épithéliales sont de grandes cellules rondes ou ovales, sans aucune disposition caractéristique et sans espaces inter-cellulaires ni stroma, ce qui les différencie du sarcome. Dernièrement nous avons rencontré un cancer bilharzien de la vessie qui montrait une dégénérescence colloïde très étendue.

B. Sarcomes bilharziens de la vessie. — Ceux-ci sont plus

rares que les cancers et peuvent remplir complètement la cavité vésicale ; on trouve de préférence des sarcomes à cellules fusiformes avec stroma inter-cellulaire fin, mais caractéristique. Les œufs de bilharzies se rencontrent dans les tissus sous-muqueux et aussi dans la masse sarcomateuse elle-même. Quelquefois on voit,

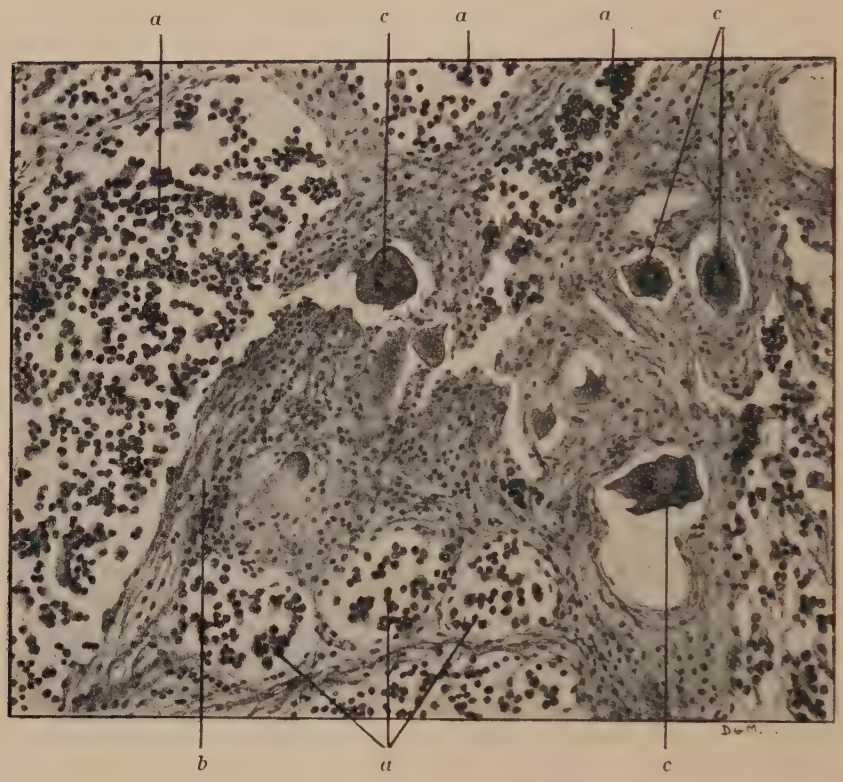

Fig. 6. — Endothéliomes nodulaires multiples du péritoine. *a*, *a*, *a*, *a*, *a*, groupes de cellules endothéliales ; *b*, stroma conjonctif inflammatoire ; *c*, œufs.

par places, de la muqueuse plus ou moins intacte au milieu de la masse sarcomateuse.

C. Endothéliomes dans des vessies bilharziennes. — Dans quelques cas de vessies atteintes par la bilharziose, nous avons observé que dans beaucoup de vaisseaux sanguins de toutes dimensions, dans le tissu sous-muqueux, ainsi que dans le tissu musculaire et le tissu sub-péritonéal, la lumière était obstruée par une prolifération endothéliale intense. Çà et là, autour de ces vaisseaux oblitérés, nous avons trouvé des aires à squirrhes endothéliaux

diffus, avec infiltration très étendue. Le tissu fibreux qui se trouve entre les groupes de cellules endothéliales est riche en cellules éosinophiles, tandis qu'il y en avait très peu dans les masses épithéliales. Les masses intra-vasculaires décrites ci-dessus ne présentent pas d'éosinophiles. Dans ces vessies, l'épithélium de la muqueuse n'est atteint que par des ulcérations ou une certaine

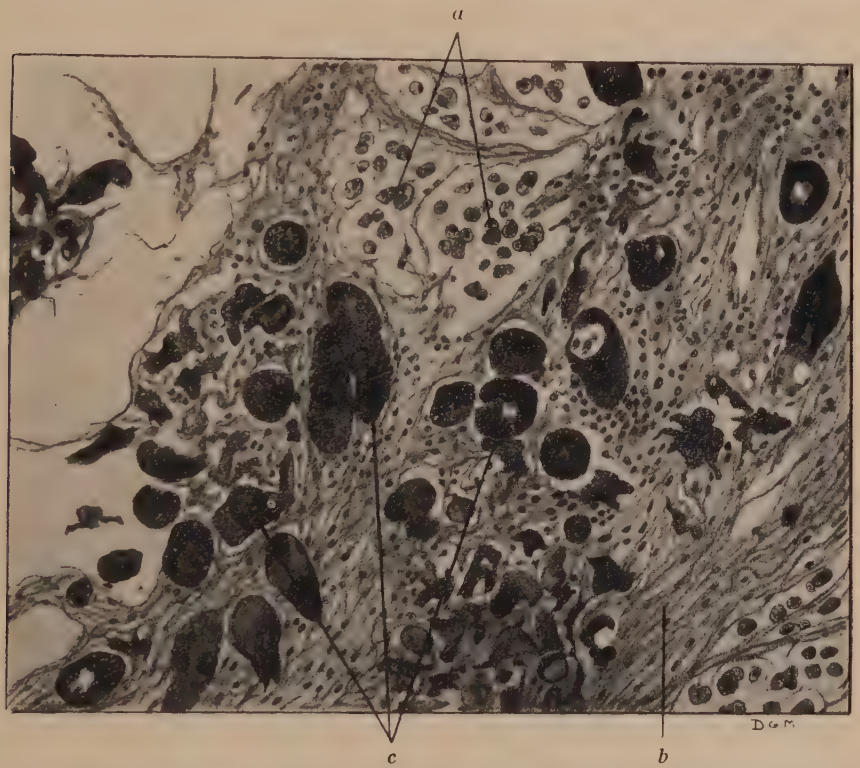

FIG. 7. — Epithélioma colloïde du gros intestin. *a*, alvéoles de cellules épithéliomateuses nageant dans la substance colloïde; *b*, stroma conjonctif; *c*, œufs calcifiés.

hypertrophie, comme cela se voit fréquemment dans les vessies bilharziennes, de telle sorte qu'il n'est pas question d'une transformation maligne. C'est pourquoi nous sommes inclinés à caractériser la lésion que nous avons décrite ci-dessus comme squirrhe endothélial d'origine vasculaire (fig. 4), ayant pour point de départ une irritation toxique produite par la bilharziose. Nous désirons ici insister sur le fait que la toxine des bilharzies possède une puissance toute particulière pour exciter la prolifération des éléments endothéliaux et endothélioïdes.

II. Endothéliomes nodulaires multiples du péritoine (fig. 6). — Nous avons rencontré trois cas d'infection bilharzienne, jugés graves d'après le nombre des parasites trouvés dans le sang de la veine porte. Outre les lésions urinaires et digestives produites par la bilharziose, nous avons trouvé le péritoine farci de nodules solides, blanc d'ivoire et de taille différente. L'examen microsco-

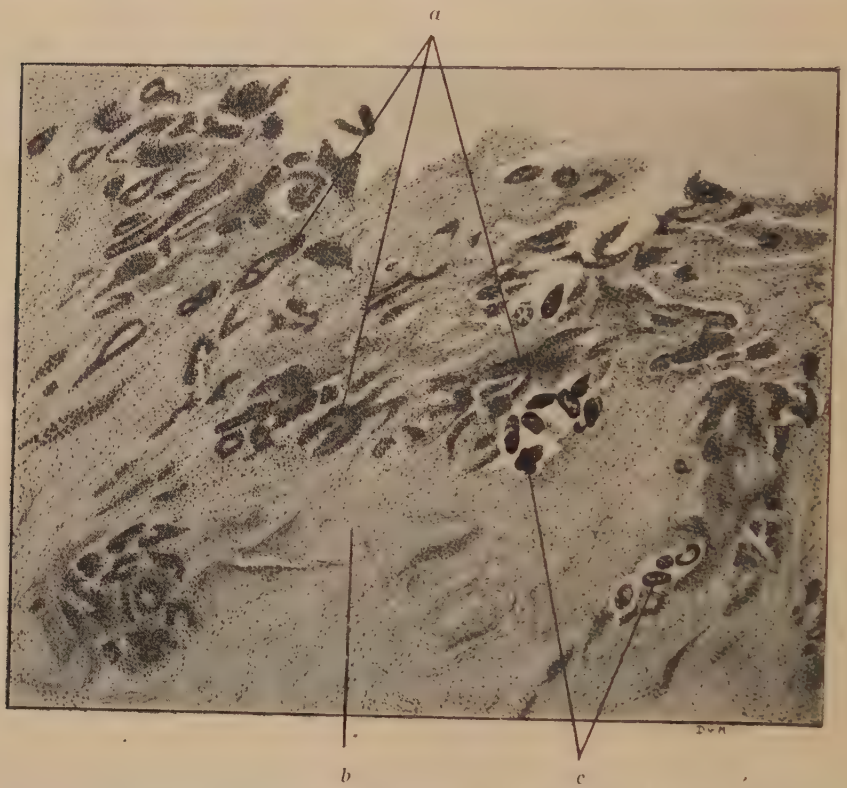

Fig. 8. — Epithélioma glandulaire du rectum. *a*, formations épithéliomateuses à caractère glandulaire plus ou moins typique ; *b*, stroma conjonctivo-musculaire ; *c*, œufs calcifiés.

pique d'un grand nombre de ces nodules provenant de chaque cas révélait la présence d'œufs à épine latérale. Ces œufs se trouvaient à la fois à la base du nodule, au point d'attache du péritoine, ainsi que dans la masse du nodule lui-même qui était histologiquement un endothélioma typique. Quelques-uns d'entre eux étaient très vascularisés et donnaient l'idée d'éléments angiomateux surajoutés à l'endothéliome compact qui formait la plus grande partie du nodule.

III. Cancers bilharziens du rectum. — L'adénocarcinome bilharzien du rectum (fig. 8) est beaucoup plus rare que le cancer de la vessie. Nous en avons actuellement rencontré trois cas, dont deux chez lesquels l'infection était déterminée par des œufs à pointe terminale (*Schistosoma hæmatobium*). L'histologie de ces tumeurs est semblable à celle des adéno-carcinomes ordinaires et ne demande aucune description spéciale.

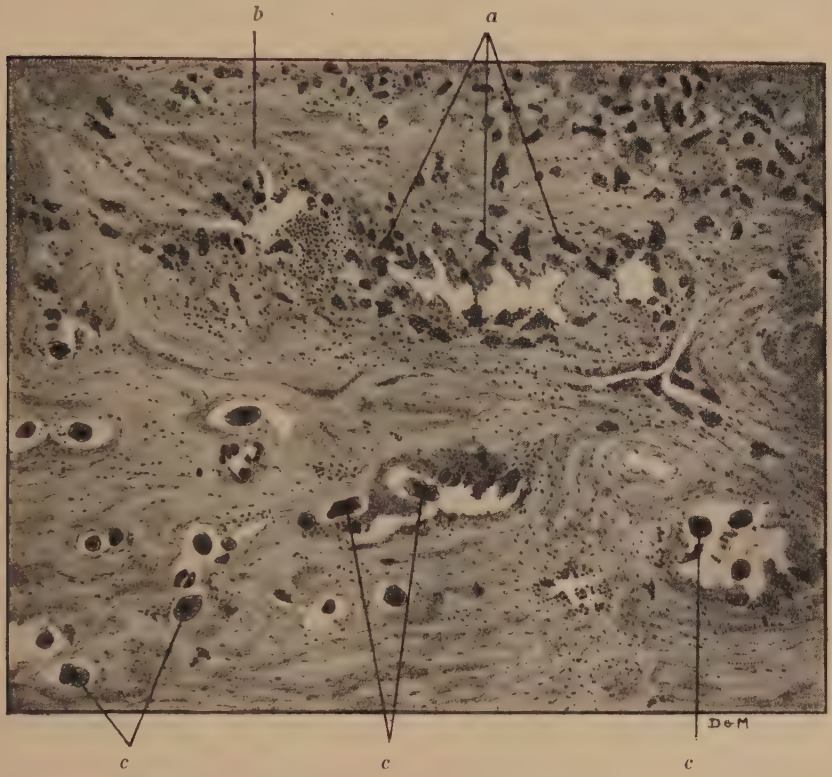

FIG. 9. — Epithélioma atypique diffus de la paroi uretérale. *a*, traînées épithéliomateuses ; *b*, tissu conjonctivo-musculaire dissocié ; *c*, œufs plus ou moins altérés.

IV. Cancers bilharziens de l'uretère. — Dans un cas de bilharziose de l'uretère, qui s'accompagnait d'un énorme épaississement fibreux, nous avons trouvé des groupes de grandes cellules arrondies, de nature épithéliale ou peut-être endothéliale, infiltrant irrégulièrement l'épaississement fibreux de l'uretère, au point de justifier le diagnostic de cancer malin de l'uretère d'origine bilharzienne (fig. 9). Comme le cancer de l'uretère est une lésion très rare, nous pensons qu'il est intéressant de rapporter ce cas.

bilharziens provenant du tissu granuleux, mais des papillomes néoplasiques.

Fréquemment il arrive que les grandes masses d'œufs de bilharzies se trouvent à la partie inférieure de la *muscularis mucosæ*. Ce tissu est étouffé mécaniquement par une atmosphère très toxique. Le résultat ne tarde pas à se produire ; ce tissu se mortifie peu à peu en réagissant plus ou moins. Les myriades d'œufs bilharziens que l'on trouve dans le tissu mortifié meurent aussi, se calcifient et se trouvent entourés de tissu peu fibreux, ce qui donne naissance en définitive aux « sandy patches » (taches de sable) que l'on découvre communément dans les vessies bilharziennes, quelquefois aussi, mais rarement, dans l'intestin. Les couches épithéliales supérieures meurent bientôt, se ratatinent et tombent complètement, en laissant une membrane transparente sur les œufs calcifiés ; de là provient la couleur jaune sale des « sandy patches ».

III. — COMPLICATIONS NÉOPLASIQUES DES BILHARZIOSES

Les néoplasmes produits par les bilharzies peuvent être bénins ou malins.

A. — RÉACTIONS BÉNIGNES

1°. — On trouve souvent des papillomes composés bénins dans le côlon, le rectum et la vessie. Ils consistent en une tige épaisse de tissu fibreux qui se ramifie en d'innombrables petites racines recouvertes d'une ou de plusieurs couches d'épithélium. Dans le corps des papillomes, on ne trouve pas d'éléments inflammatoires bilharziens ni d'œufs de bilharzie. Ces œufs existent seulement dans la paroi de l'intestin ou de la vessie, à la base de la tige du papillome où ils produisent l'irritation qui a donné naissance au papillome néoplasmique.

2°. — On note aussi des formations adéno-papillomateuses diffuses dans la muqueuse de l'anse sigmoïde, tout autour de sa lumière et sur une assez grande longueur. Le côlon sigmoïdien ressemble à une corde dure et, étant donnée l'obstruction de sa lumière par les formations adéno-papillomateuses, on pourrait croire à une tumeur maligne de cette partie de l'intestin. Histologiquement, on trouve quelques œufs de bilharzies dans la sous-muqueuse, tandis que toute la muqueuse est épaissie par des formations adéno-papilloma-

teuses ramifiées, diffuses et enchevêtrées, qui ne contiennent ni œufs de bilharzies, ni éléments inflammatoires cellulaires d'origine bilharzienne.

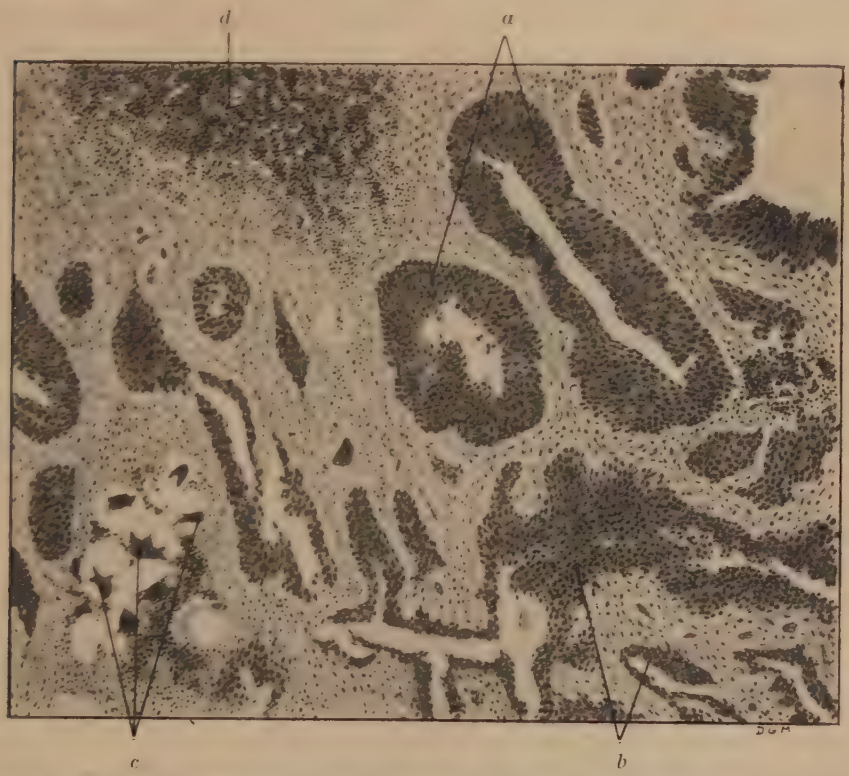

FIG. 1. — Etat précancéreux. Prolifération de l'épithélium vésical pénétrant déjà dans les couches sous-muqueuses sous forme de boyaux pleins ou à centres dégénérés. *a*, invagination épithéliomateuses de la muqueuse ; *b*, boyau néoplasique plein ; *c*, débris d'œufs calcifiés entourés d'une réaction inflammatoire ; *d*, infiltration inflammatoire banale.

B. — NÉOPLASMES IRRITATIFS MALINS BILHARZIENS

Les tumeurs malignes suivantes ont été rencontrées accompagnant la bilharziose :

1° Trois variétés différentes de carcinome de la vessie.
2° Sarcome de la vessie.
3° Endothéliome de la vessie.
4° Endothéliome nodulaire multiple du péritoine.
5° Adéno-carcinome du rectum.
6° Cancer de l'uretère.

Parmi les observations innombrables de tumeurs dues à l'irritation bilharzienne, nous devons appuyer sur ce fait que les œufs de bilharzies, de quelque variété qu'ils soient, que nous avons rencontrés dans ces lésions malignes, ne sont jamais entourés par les éléments inflammatoires habituels dans la bilharziose si ce n'est occasionnellement par quelques éosinophiles. L'exacte signification

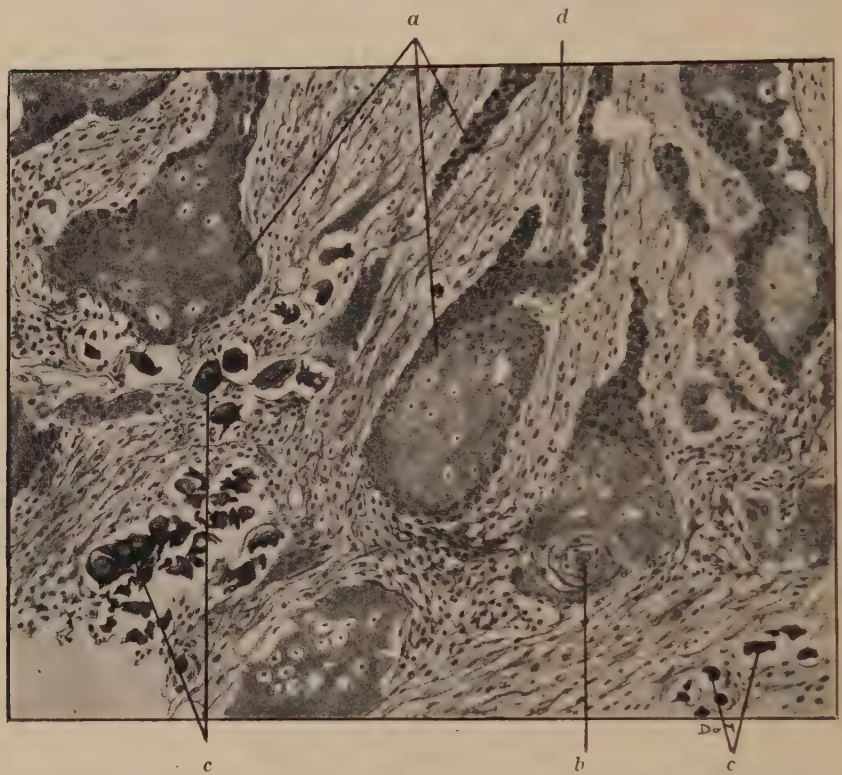

Fig. 2. — Epithélioma malpighien spinocellulaire de la vessie. *a*, lobules épithéliomateux spinocellulaires ; *b*, globe épidermoïde ; *c*, *c*, débris d'œufs calcifiés ; *d*, stroma conjonctivo-musculaire de la paroi vésicale.

de ce fait est difficile à expliquer. Mais il est possible que les éléments cellulaires inflammatoires de la bilharziose, particulièrement les cellules endothélioïdes, les cellules géantes et les éosinophiles qui entourent les œufs, agissent comme un bouclier, atténuent et détruisent la puissante toxine bilharzienne qui irrite les tissus et limitent ainsi la réaction des tissus aux lésions inflammatoires ordinaires de la bilharziose. Peut-être aussi ces éléments inflammatoires bilharziens n'étant plus accumulés autour des œufs, leurs toxines

puissamment irritatives agissent en toute liberté sur les tissus et y produisent une réaction à forme d'irritation néoplasique.

Le cancer de la vessie par irritation bilharzienne est une complication commune en Egypte. Ces tumeurs se développent habituellement sur le trigone ou sont rejetées sur un côté ; elles atteignent souvent une dimension telle qu'elles remplissent toute la cavité de

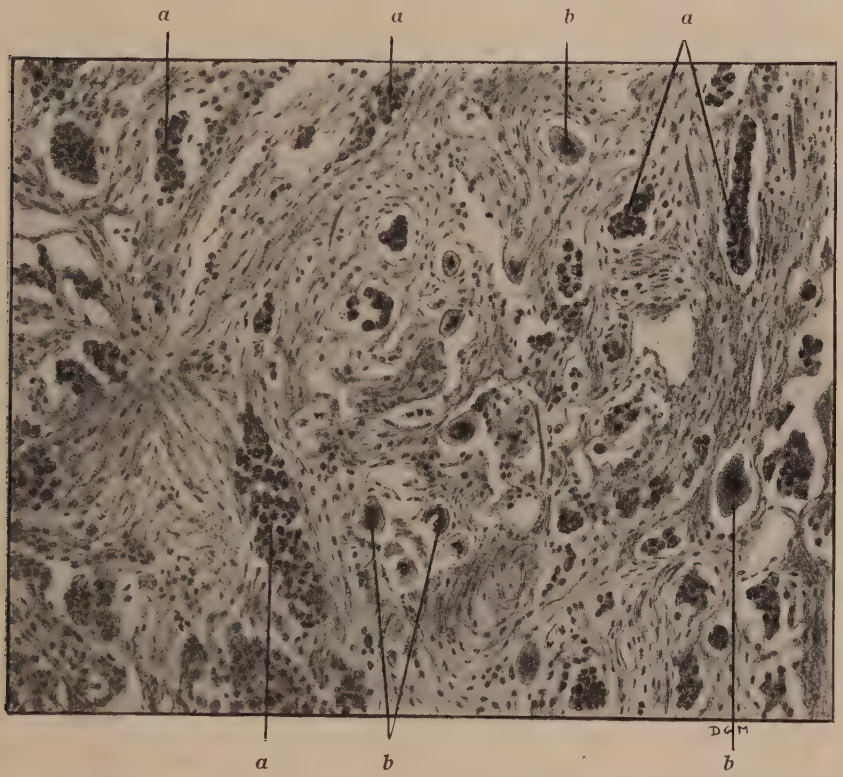

Fig. 3. — Epithélioma atypique de la vessie, forme scléreuse. *a*, *a*, *a*, *a*, boyaux épithéliomateux à cellules indifférenciées ; *b*, *b*, *b*, œufs de *Schistosoma hæmatobium*.

l'organe. Elles sont alors capables d'obstruer un ou même les deux uretères, produisant leur dilatation et une hydro-pyonéphrose qui hâte la mort.

La vessie cancéreuse peut former des adhérences malignes avec les anses intestinales ou avec la paroi abdominale antérieure qui peut s'ulcérer et produire des fistules. Ces adhérences peuvent envahir la paroi musculaire de la vessie et produire des métastases dans le péritoine qui la recouvre, ainsi que dans les ganglions pel-

viens. Ferguson (1911) (1) a trouvé des métastases jusque dans le muscle cardiaque. Ces cancers tendent à s'accroître à l'intérieur des vaisseaux sanguins et nous les avons trouvés le long des nerfs de la paroi vésicale.

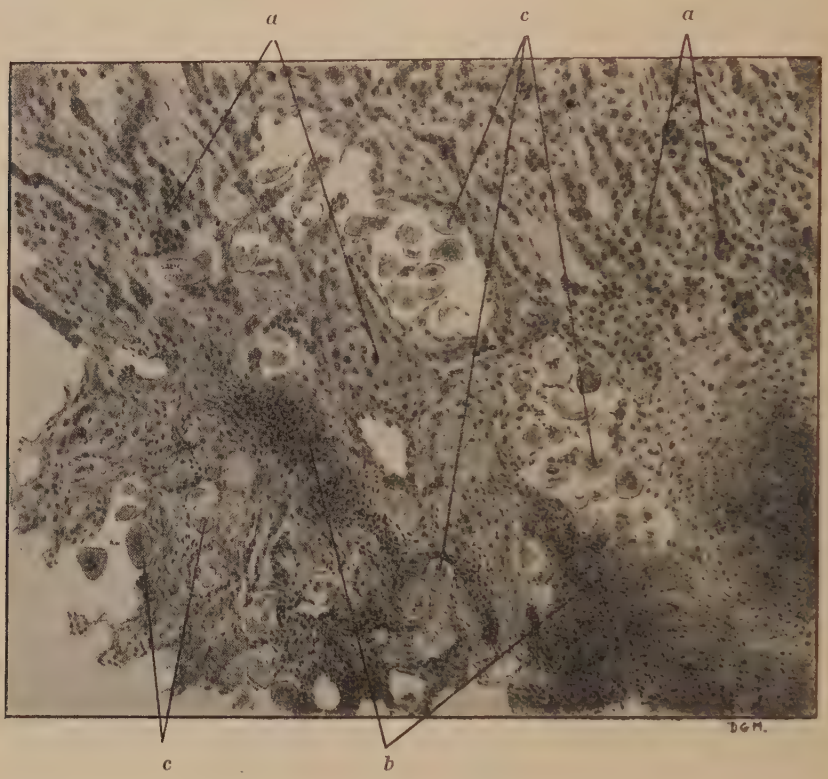

Fig. 4. — Endothéliome de la vessie, d'origine vasculaire. *a*, *a*, masses de cellules endothéliales ; *b*, zones nécrotiques avec débris nucléaires ; *c*, œufs de bilharzies.

I. Variétés de cancers bilharziens vésicaux

A. Epithéliomas. 1° Epithélioma typique, semblable à ceux que l'on rencontre à la lèvre et à la langue, formés de nids cellulaires typiques. La tumeur peut être une masse solide, semblable à un chou-fleur, formée de masses épithéliales envahissant les couches musculaires.

2° Un squirrhe, type de cancers consistant en de grandes cellules

(1) Ferguson (A.-R.). — Associated bilharziosis and primary malignant disease of the urinary bladder. *Journ. Path. and Bact. Cambridge*, XVI, 1911, pp. 76-94.

épithéliales disposées par groupes et par colonnes, de nature non squameuse et entourées d'une grande quantité de tissu fibreux bien caractéristique, dans lequel existent de nombreux œufs de bilharzies à épine terminale (*Schistosoma hæmatobium*) paraissant vivants.

3° Un cancer à cellules très molles avec très peu de tissu conjonc-

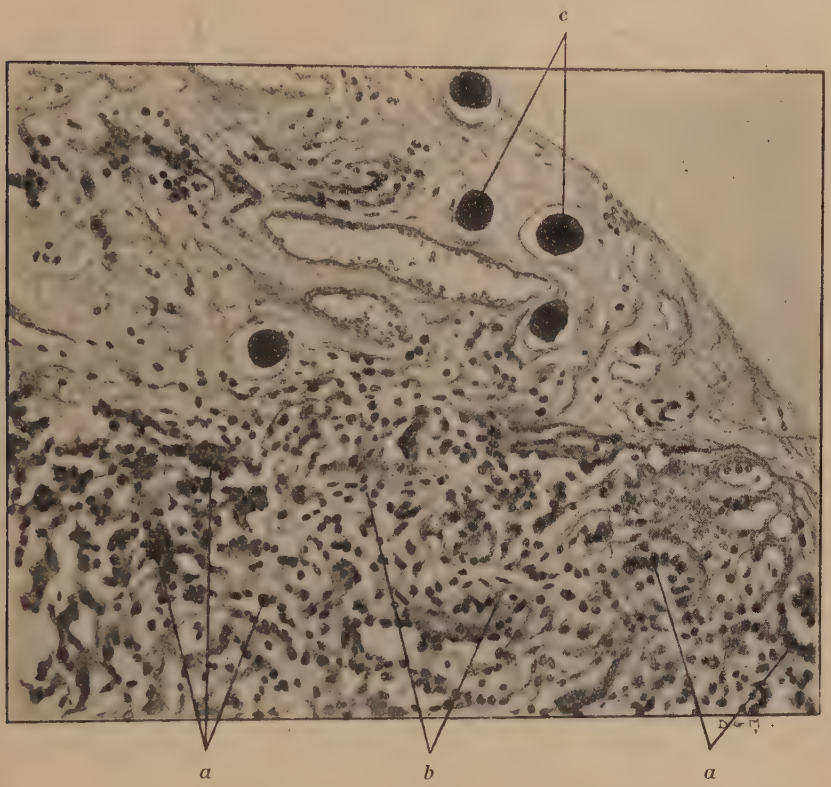

FIG. 5. — Tumeur vésicale. Atypie totale des formations néoplasiques. — La fixation défectueuse a provoqué la rétraction et l'isolement des cellules néoplasiques qui simulent des cellules sarcomateuses. Il s'agit plutôt d'un épithélioma atypique comme dans la fig. précédente. *a*, *a*, boyaux néoplasiques ; *b*, stroma conjonctif ; *c*, œufs calcifiés.

tif et très peu de fins capillaires. Les cellules épithéliales sont de grandes cellules rondes ou ovales, sans aucune disposition caractéristique et sans espaces inter-cellulaires ni stroma, ce qui les différencie du sarcome. Dernièrement nous avons rencontré un cancer bilharzien de la vessie qui montrait une dégénérescence colloïde très étendue.

B. Sarcomes bilharziens de la vessie. — Ceux-ci sont plus

rares que les cancers et peuvent remplir complètement la cavité vésicale ; on trouve de préférence des sarcomes à cellules fusiformes avec stroma inter-cellulaire fin, mais caractéristique. Les œufs de bilharzies se rencontrent dans les tissus sous-muqueux et aussi dans la masse sarcomateuse elle-même. Quelquefois on voit,

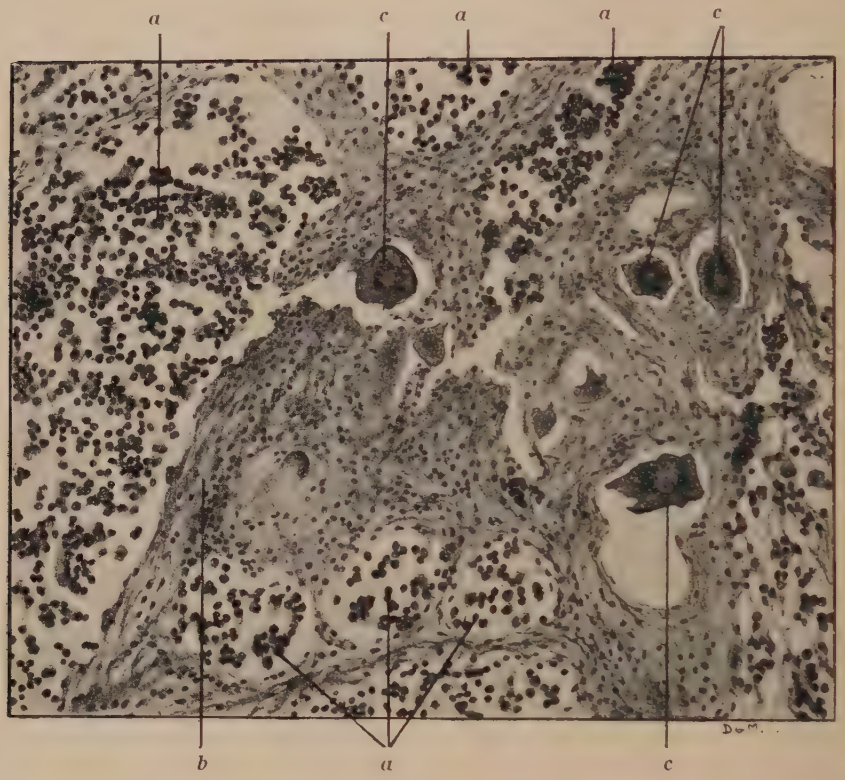

Fig. 6. — Endothéliomes nodulaires multiples du péritoine. *a*, *a*, *a*, *a*, *a*, groupes de cellules endothéliales ; *b*, stroma conjonctif inflammatoire ; *c*, œufs.

par places, de la muqueuse plus ou moins intacte au milieu de la masse sarcomateuse.

C. Endothéliomes dans des vessies bilharziennes. — Dans quelques cas de vessies atteintes par la bilharziose, nous avons observé que dans beaucoup de vaisseaux sanguins de toutes dimensions, dans le tissu sous-muqueux, ainsi que dans le tissu musculaire et le tissu sub-péritonéal, la lumière était obstruée par une prolifération endothéliale intense. Çà et là, autour de ces vaisseaux oblitérés, nous avons trouvé des aires à squirrhes endothéliaux

diffus, avec infiltration très étendue. Le tissu fibreux qui se trouve entre les groupes de cellules endothéliales est riche en cellules éosinophiles, tandis qu'il y en avait très peu dans les masses épithéliales. Les masses intra-vasculaires décrites ci-dessus ne présentent pas d'éosinophiles. Dans ces vessies, l'épithélium de la muqueuse n'est atteint que par des ulcérations ou une certaine

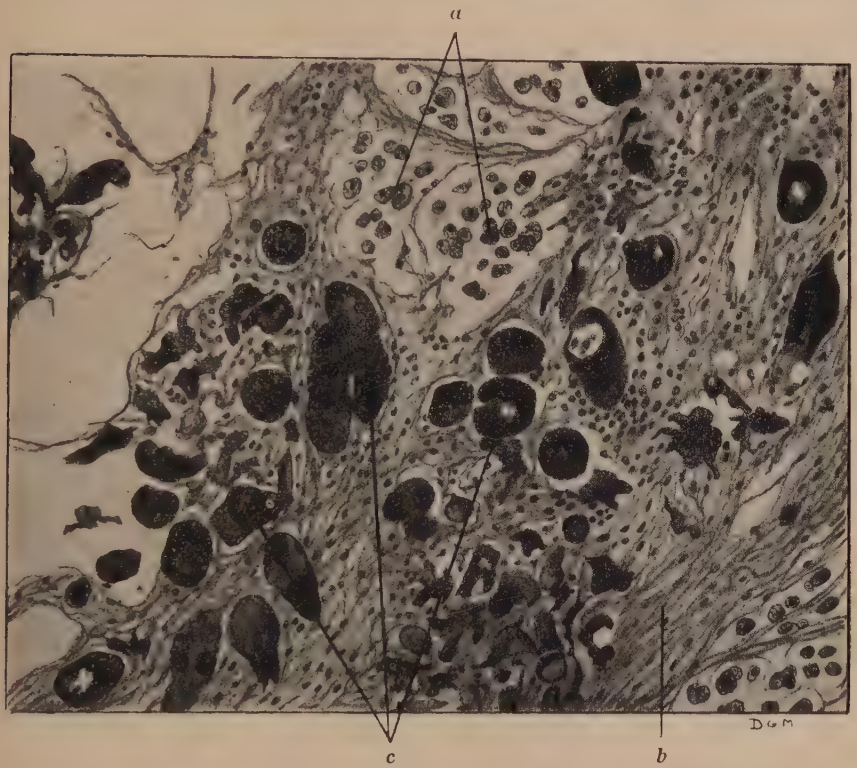

FIG. 7. — Epithélioma colloïde du gros intestin. *a*, alvéoles de cellules épithéliomateuses nageant dans la substance colloïde; *b*, stroma conjonctif; *c*, œufs calcifiés.

hypertrophie, comme cela se voit fréquemment dans les vessies bilharziennes, de telle sorte qu'il n'est pas question d'une transformation maligne. C'est pourquoi nous sommes inclinés à caractériser la lésion que nous avons décrite ci-dessus comme squirrhe endothélial d'origine vasculaire (fig. 4), ayant pour point de départ une irritation toxique produite par la bilharziose. Nous désirons ici insister sur le fait que la toxine des bilharzies possède une puissance toute particulière pour exciter la prolifération des éléments endothéliaux et endothélioïdes.

II. Endothéliomes nodulaires multiples du péritoine (fig. 6). — Nous avons rencontré trois cas d'infection bilharzienne, jugés graves d'après le nombre des parasites trouvés dans le sang de la veine porte. Outre les lésions urinaires et digestives produites par la bilharziose, nous avons trouvé le péritoine farci de nodules solides, blanc d'ivoire et de taille différente. L'examen microsco-

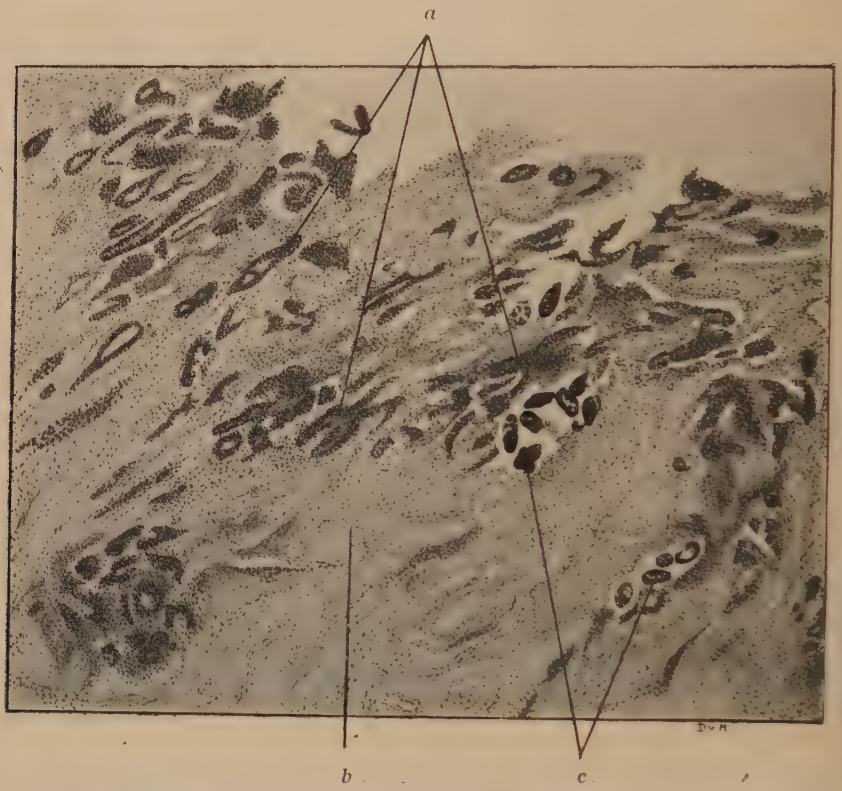

Fig. 8. — Epithélioma glandulaire du rectum. *a*, formations épithéliomateuses à caractère glandulaire plus ou moins typique ; *b*, stroma conjonctivo-musculaire ; *c*, œufs calcifiés.

pique d'un grand nombre de ces nodules provenant de chaque cas révélait la présence d'œufs à épine latérale. Ces œufs se trouvaient à la fois à la base du nodule, au point d'attache du péritoine, ainsi que dans la masse du nodule lui-même qui était histologiquement un endothélioma typique. Quelques-uns d'entre eux étaient très vascularisés et donnaient l'idée d'éléments angiomateux surajoutés à l'endothéliome compact qui formait la plus grande partie du nodule.

III. Cancers bilharziens du rectum. — L'adénocarcinome bilharzien du rectum (fig. 8) est beaucoup plus rare que le cancer de la vessie. Nous en avons actuellement rencontré trois cas, dont deux chez lesquels l'infection était déterminée par des œufs à pointe terminale (*Schistosoma hæmatobium*). L'histologie de ces tumeurs est semblable à celle des adéno-carcinomes ordinaires et ne demande aucune description spéciale.

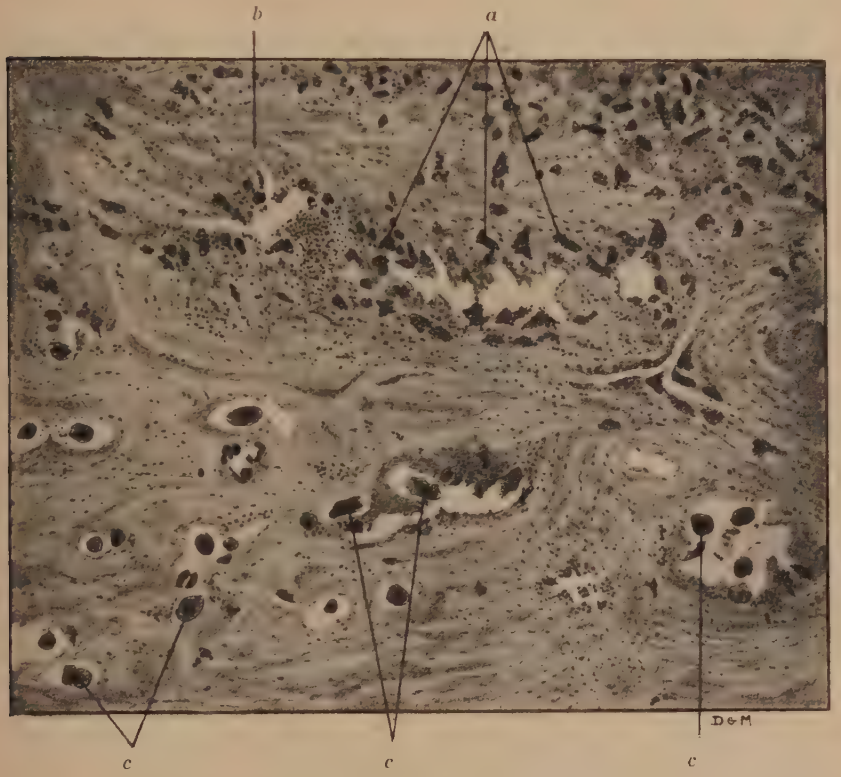

FIG. 9. — Epithélioma atypique diffus de la paroi uretérale. *a*, traînées épithéliomateuses ; *b*, tissu conjonctivo-musculaire dissocié ; *c*, œufs plus ou moins altérés.

IV. Cancers bilharziens de l'uretère. — Dans un cas de bilharziose de l'uretère, qui s'accompagnait d'un énorme épaississement fibreux, nous avons trouvé des groupes de grandes cellules arrondies, de nature épithéliale ou peut-être endothéliale, infiltrant irrégulièrement l'épaississement fibreux de l'uretère, au point de justifier le diagnostic de cancer malin de l'uretère d'origine bilharzienne (fig. 9). Comme le cancer de l'uretère est une lésion très rare, nous pensons qu'il est intéressant de rapporter ce cas.

Résumé

L'irritation produite dans les tissus par la présence des œufs de bilharzies et par leur action toxique a pour résultat l'apparition de tumeurs bénignes et malignes quelquefois très volumineuses.

Dans le tube digestif on observe, suivant la localisation des œufs par rapport à la *muscularis mucosæ*, des papillomes ou des lésions sous-muqueuses pouvant être par la suite plus ou moins ulcérés. Il existe aussi des lésions appendiculaires et péricoliques.

Dans la vessie, la *muscularis mucosæ* joue le même rôle de barrière modifiant la marche de l'infection. Là encore on observe des lésions en plateau et des papillomes qui s'ulcèrent plus ou moins précocement. Lorsque les œufs sont localisés dans la couche musculaire, celle-ci subit la dégénérescence fibreuse qui aboutit à la rétraction permanente de la vessie. Enfin, la présence d'amas d'œufs amène la mortification des tissus et l'apparition de taches jaunâtres (« sandy patches »), remplies d'œufs calcifiés.

Les complications néoplasiques de la bilharziose peuvent être bénignes (papillomes et adéno-papillomes) ou malignes (sarcome, endothéliome, adéno-carcinome, carcinome, épithéliome) et localisées dans la vessie, le péritoine, le rectum et même l'uretère. Dans ces tumeurs, on ne trouve jamais les éléments inflammatoires qui entourent habituellement les œufs dans les lésions bilharziennes. On peut penser que l'absence de ces éléments, qui ne sont plus là pour neutraliser les toxines bilharziennes, est la cause indirecte de l'apparition des tumeurs.

Laboratoire d'anatomie pathologique de la Faculté de médecine du Caire

ESSAI DE CULTURE *IN VITRO* DE MICROFILAIRES DE BANCROFT

Par F. COUTELEN

Dans une note antérieure, parue dans le *Bulletin de la Société de Pathologie exotique* et intitulée « Contribution aux essais de culture *in vitro* d'embryons de filaires », nous avons indiqué les survies d'embryons d'*Icosiella neglecta* (Diesing, 1851) que nous avons obtenues en milieu hypotonique liquide de Ponselle à la température de 18° C. Au cours de la revue bibliographique et critique qui précédait nos propres expériences, nous avons relaté, entre autres, les résultats obtenus par Takeshita et Okuda avec des embryons de *Wuchereria bancrofti* (Cobbold, 1877). En 1925, ces deux auteurs japonais, plaçant des embryons de cette filaire dans « deux appareils spécialement construits à cet usage », obtinrent des survies de 12 à 14 jours en solution physiologique de NaCl et de 23 jours, à 11° 5 c., en « solution saline, hémoglobinisée avec du sang de bœuf » (?) (« cattle hæmoglobinized saline »). Nous mentionnions déjà que nous n'avions connaissance de ces résultats que par une analyse du *Tropical Diseases Bulletin*, tirée elle-même d'un sommaire paru dans le *Japan Medical World*. Depuis, il ne nous a pas encore été possible de retrouver le texte original, en sorte que nous ignorons toujours les détails techniques de cette expérience et, en particulier, l'agencement des « deux appareils spécialement construits à cet usage ».

Certains points importants de la biologie des microfilaires étant encore inconnus ou controversés, tels que la signification et la destinée du corps central, l'origine de la gaine, le mode de sortie de l'embryon de sa gaine et l'existence d'un dard céphalique, il nous a paru intéressant d'essayer, à notre tour, des cultures *in vitro*, afin de préciser, si possible, ces différentes particularités.

Ayant eu dernièrement l'occasion d'examiner un malade atteint de filariose nocturne, nous l'avons trouvé porteur d'un nombre suffisant de microfilaires dans son sang périphérique (25 embryons par goutte de sang sous lamelle 22 × 22) pour faire les essais suivants :

Technique. — Par ponction veineuse au pli du coude, nous avons fait une prise de sang aseptique de 50 cm³ environ. Après coagula-

Annales de Parasitologie, t. VII, n° 5. — 1er septembre 1929, p. 399-409.

tion, nous avons recueilli le sérum du malade avec une pipette à boule et nous l'avons réparti en quantités égales dans trois tubes à essais.

Le premier tube à essai, contenant du sérum seul, nous a servi de témoin.

Le deuxième tube à essai a reçu un volume de solution physiologique de NaCl stérile égal au volume de sérum qu'il contenait.

Le troisième tube à essai a reçu tous les quatre jours deux centimètres cubes d'une solution stérile de glycose à 1 p. 100 dans la solution physiologique de NaCl. Les milieux de ces deux derniers tubes ont été dédoublés et plus ou moins modifiés par la suite.

Ces tubes, bouchés à l'ouate et capuchonnés, ont été abandonnés à la température du laboratoire. Leur contenu a été régulièrement examiné, soit en prélevant directement au fond du tube une goutte du milieu, soit en examinant le culot de centrifugation d'une faible quantité de la culture (tube n° 3).

L'examen microscopique a été fait soit à frais, entre lame et lamelle, avec ou sans coloration vitale au rouge neutre, soit sur frottis avec coloration post-vitale au bleu de Sabrazès, soit sur frottis ou gouttes épaisses colorés par la méthode panoptique.

Résultats. — Durant ces expériences, nous avons examiné et mesuré très exactement un grand nombre d'embryons ; nous avons groupé dans le tableau n° 1 qui accompagne cette note, les mensurations se rapportant à une dizaine de microfilaires seulement, pour ne pas surcharger nos pages de chiffres, mais en ayant soin de choisir ces dix échantillons parmi ceux qui présentaient non seulement des chiffres moyens, mais aussi des chiffres extrêmes : nos moyennes sont donc aussi exactes que possible.

I. — Voici d'abord quelques chiffres mesurant, en microns, les dimensions des microfilaires, le jour de la prise de sang (voir tableau n° 1) :

1° Gaines : Longueur minima : 360 μ ; longueur maxima : 404 μ ; longueur moyenne : 382 μ.

Largeur minima : 9,1 μ ; largeur maxima : 9,6 μ ; largeur moyenne : 9,3 μ.

Ces chiffres sont voisins de ceux donnés par Foley : 394 μ et 8,25 μ.

2° Embryons : Longueur minima : 261 μ ; longueur maxima : 306 μ ; longueur moyenne : 283 μ.

Largeur minima : 5,5 μ ; largeur maxima : 5,5 μ ; largeur moyenne : 5,5 μ.

Foley donne les chiffres moyens de 275 μ et 6,8 μ assez voisins des nôtres ; par contre certains auteurs ont donné des chiffres moyens plus élevés : Manson, 333 μ et de 7 à 8 μ ; Penel, 300 μ et 8 μ. Ces

différences de taille s'expliquent probablement par l'espace de temps qui s'est écoulé entre la ponte des embryons et l'époque à laquelle on les a recherchés dans le sang périphérique et examinés.

Notons dès à présent qu'il n'y a aucune relation entre les dimensions de la gaine et celles de l'embryon correspondant. C'est ainsi, par exemple, qu'un petit embryon mesurant 261 μ × 5,5 μ avait une gaine de 382 μ × 9,3 μ ; qu'un gros embryon de 292 μ × 5,5 μ avait une petite gaine de 360 μ × 9,1 μ seulement.

Pour les distances qui séparent l'extrémité céphalique des embryons de leurs diverses « taches » nous avons trouvé des chiffres (voir tableau n° 3, microfilaire A) concordant à peu de chose près avec ceux donnés par Foley dans son excellent travail statistique.

II. — Voici maintenant les résultats généraux de nos essais de culture, *in vitro*, d'embryons de filaire de Bancroft:

A l'encontre des essais de Takeshita et Okuda, qui n'ont obtenu des survies de 12 à 23 jours qu'en milieux spéciaux et au moyen « d'appareils spécialement construits à cet usage », nous avons obtenu des cultures d'embryons de 32 jours sans aucun appareil, en tubes à essais ordinaires ; nous avons simplement employé les techniques bactériologiques habituelles que nous avions eu déjà l'occasion d'utiliser pour la culture de formes larvaires d'autres helminthes ; de plus, les milieux constitués par la solution physiologique de NaCl simple ou hémoglobinisée ou dextrosée, ne nous ont pas donné, dans cette première série d'expériences du moins, de résultats meilleurs que le sérum humain normal, non chauffé et en qualité suffisante : c'est même dans le tube témoin que nous avons enregistré les survies les plus nombreuses, les plus longues et les débuts d'évolution les plus marqués. Aussi, comme type d'évolution, nous allons passer en revue les modifications subies par les embryons conservés dans du sérum seul, en indiquant, chemin faisant, les changements de taille, toujours plus faibles, qu'ont présenté parallèlement les microfilaires des autres milieux (consulter la dernière colonne du tableau comparatif n° 1).

Dans les tout premiers jours, le changement le plus important, observé chez les embryons, est la perte de leur gaine. Nous préciserons dans une note ultérieure la façon dont s'opère ce dégainement. Ce phénomène, général pour les microfilaires cultivées en sérum seul, s'observe exceptionnellement dans les milieux fluidifiés par addition de solutions physiologique de NaCl ou de glycose ; il paraît donc lié à la viscosité du milieu plutôt qu'à un abaissement de la température. Nous reviendrons ultérieurement sur ce point. A ce stade, la taille des embryons ne s'est

TABLEAU COMPARATIF N° 1

FROTTIS DE SANG DU MALADE LE JOUR DE LA PONCTION VEINEUSE				SÉRUM DU MALADE (TUBE TÉMOIN) EMBRYONS AYANT PERDU LEUR GAINE				SÉRUM HÉMOGLOBINISÉ SOLUTION PHYSIOLOGIQUE DEXTROSÉE	
Gaines		Embryons		20e jour		30e jour		Embryons au 30e jour	
L	l	L	l	L	l	L	l	L	l
382 × 9,3		261 × 5,5		297 × 9,1		301 × 11,0		270 × 11,0	
378 × 9,1		270 × 5,5		301 × 9,1		306 × 9,1		279 × 9,1	
382 × 9,2		270 × 5,5		306 × 7,3		315 × 7,3		292 × 7,3	
360 × 9,2		270 × 5,5		315 × 7,3		315 × 9,1		297 × 7,3	
404 × 9,6		283 × 5,5		315 × 7,3		315 × 9,1		297 × 7,3	
360 × 9,1		283 × 5,5		315 × 7,3		315 × 9,1		301 × 7,3	
382 × 9,2		283 × 5,5		315 × 7,3		315 × 9,1		315 × 7,5	
395 × 9,4		288 × 5,5		319 × 9,1		324 × 7,3		315 × 7,3	
360 × 9,1		292 × 5,5		324 × 9,1		324 × 7,3		315 × 7,3	
395 × 9,5		306 × 5,5		324 × 9,1		337 × 9,1		319 × 7,3	
Longueur minima 360		Longueur minima 261		Longueur minima 297		Longueur minima 301		Longueur minima 270	
Longueur maxima 404		Longueur maxima 306		Longueur maxima 324		Longueur maxima 337		Longueur maxima 319	
Largeur minima 9,1		Largeur minima et maxima 5,5		Largeur minima 7,3		Largeur minima 7,3		Largeur minima 7,3	
Largeur maxima 9,6				Largeur maxima 9,1		Largeur maxima 11,0		Largeur maxima 11,0	

L : longueur (calculée en extension et suivant l'axe antéro-postérieur de l'embryon).
l : largeur (calculée d'après la plus grande largeur présentée par l'embryon).
Taille exprimée en μ.
Les dimensions sont données par ordre de longueur croissante.

pas accrue, leur morphologie interne n'a pas changé : on distingue seulement, sur frottis colorés par la méthode panoptique, la tache oblique, la tache en V, le corps central et la tache caudale ; nous avons très rarement observé la tache inconstante de Brumpt. Nos mesures étant exprimées en microns, voici quelques distances

moyennes enregistrées : espace céphalique, 6 μ ; espace caudal (sans cellules somatiques), 19 μ ; distance de l'extrémité céphalique à la tache oblique, 58 μ ; à la tache en V, 90 μ ; au milieu du corps central, 170 μ ; à la tache caudale, 237 μ ; à l'extrémité caudale, 283 μ. Largeur moyenne des embryons, 5,5 μ. Le nombre total moyen des cellules somatiques s'élève à 312 (Korke donne le chiffre de 313) ; elles sont réparties de la façon suivante : de l'extrémité céphalique à la tache en V, 120 ; de la tache en V à la tache caudale, 164 ; de la tache caudale à l'extrémité caudale, 28. Nous avons volontairement laissé de côté le corps central, comme point de repère, car il est destiné à disparaître progressivement au cours de l'évolution.

En effet, dans les jours qui suivent, les embryons du milieu constitué par du sérum seul, destinés à survivre et à continuer leur évolution, après s'être débarrassés de leur gaine, perdent progressivement leur corps central. Cette formation, sur l'origine et la signification de laquelle nous reviendrons ultérieurement, perd ses contours nets, se résoud, petit à petit, en fines granulations qui, quelquefois, s'étalent, sans ordre apparent, sur toute la largeur de l'embryon. On

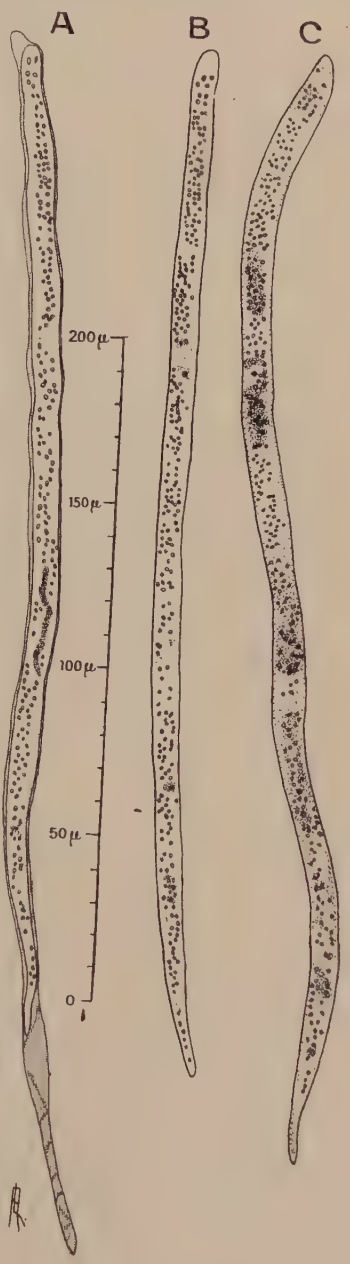

Fig. 1. — A. Microfilaire avec sa gaine, le jour de la prise de sang. B. Microfilaire au vingtième jour de culture en sérum non chauffé. C. Microfilaire au trentième jour de culture en sérum non chauffé. La microfilaire A présentait une largeur de 7 μ dépassant de 1,5 μ la largeur des autres microfilaires examinées; elle désavantage donc l'étude comparative de l'accroissement de taille des microfilaires B et C ; nous l'avons cependant fait figurer à cause de sa fixation et de sa coloration parfaites.

assiste progressivement à une véritable fonte du corps central. Bien loin de s'organiser, comme on l'a cru jusqu'ici, il se désagrège et finit par disparaître complètement.

La microfilaire B de nos figures 1 et 2, au vingtième jour de culture, nous montre la disparition complète du corps central dont le seul vestige réside en un tout petit amas de quelques fines granulations.

A ce stade (20e jour), les embryons ont déjà grossi. Leur longueur moyenne a crû de 283 μ à 310 μ ; leur largeur moyenne de 5,5 μ à 8,2 μ ; la tache en V a été remplacée par l'ébauche du pore excréteur et la première cellule excrétrice ; la 1re cellule génitale est apparue ; la tache caudale qui était à peine large de 5 μ, a été remplacée par les 2e, 3e et 4e cellules génitales (1), ainsi que par l'ébauche du pore anal et leur ensemble a acquis une extension égale à 15 μ; sur cet échantillon est apparue nettement la tache inconstante de l'extrémité caudale. A remarquer, ici aussi, le déplacement vers l'arrière des dernières cellules somatiques, en sorte que l'espace caudal se trouve réduit de 19 μ à 4 μ. En même temps que l'embryon croissait en longueur et en largeur, s'opérait une multiplication des noyaux somatiques surtout dans la région des ébauches excrétrice et génitale : en effet, de l'extrémité céphalique au pore excréteur, le nombre des noyaux passait de 120 à 156 ; du pore excréteur au pore anal il passait de 164 à 181, tandis que le nombre de noyaux répartis entre le pore anal et l'extrémité caudale restait égal à 28.

Donc, en 20 jours de culture en sérum frais, les microfilaires avaient subi de notables changements morphologiques externes (disparition de la gaine, accroissement de la taille) et internes (disparition progressive du corps central interne, apparition du pore excréteur, de la première cellule excrétrice, des cellules génitales 1, 2, 3 et 4, de l'ébauche du pore anal, de la tache inconstante et multiplication des cellules somatiques). Dans les autres milieux les changements étaient moins accusés et la mortalité plus élevée. Il faut noter cependant que, les changements concernant la gaine et le corps central mis à part, ce stade d'évolution peut également s'observer sur des microfilaires dans le sang des malades.

Du vingtième au trentième jour, l'évolution s'était encore accentuée chez les exemplaires, encore nombreux, restés vivants ; à partir

(1) Nous continuons à adopter provisoirement l'appellation de « cellules génitales » donnée classiquement à ces cellules numérotées « 2, 3 et 4 » tout en faisant des réserves sur leur véritable signification embryogénique non démontrée jusqu'à ce jour. La même réserve s'imposera lorsque, au cours de ce travail, nous appellerons nous-même « ébauches génitales 2, 3 et 4 » les groupements cellulaires issus de ces « cellules génitales 2, 3 et 4 ».

FIG. 2. — A, B et C, les mêmes microfilaires dessinées à un fort grossissement. *g*, gaine ; *ec*, espace céphalique ; *ns*, noyaux des cellules somatiques ; *to*, tache oblique ; *tv*, tache en V ; *cc*, corps central ; *tc*, tache caudale ; *eca*, espace caudal ; *pe*, pore excréteur ; *ce*, cellule excrétrice ; *vcc*, vestige du corps central ; *1 cg*, 1re cellule génitale ; *2 cg*, 2e cellule génitale ; *3 cg*, 3e cellule génitale ; *4 cg*, 4e cellule génitale ; *pa*, pore anal ; *ti*, tache inconstante ; *œs*, ébauche œsophagienne ; *an. n. œs.*, anneau nerveux œsophagien ; *ve*, ébauche des vaisseaux excréteurs ; *st. c.*, striation cuticulaire ; *1 eb. g.*, *2 eb. g.*, *3 eb. g.*, *4 eb. g.*, 1re, 2e, 3e et 4e ébauches génitales ; *x*, *x'*, *y*, *y'*, *z*, *z'*, raccords des tronçons des microfilaires A, B et C.

du trentième jour la mortalité s'accrut rapidement, sans doute par épuisement du milieu, et j'observai les derniers embryons vivants et nettement mobiles le 32e jour.

Voici (figures 1 et 2, C) les résultats acquis au 30e jour et compa-

Tableau comparatif N° 2

Quelques dimensions comparées évaluées en microns.	Microfilaire A 1er jour	Microfilaire B 20e jour	Microfilaire C 30e jour
Longueur totale de la gaine.....	370	plus de gaine	plus de gaine
Largeur maxima de la gaine.....	9	»	»
Longueur de l'embryon	296	310	340
Largeur maxima de l'embryon.....	7	8,5	10
Nombre de cellules somatiques			
De l'extrémité céphalique à la tache en V (ou au pore excréteur).....	120	156	165
De la tache en V (ou du pore excréteur) à la tache caudale (ou au pore anal).....	164	181	190
De la tache caudale (ou du pore anal) à l'extrémité caudale.....	28	28	42
Nombre total des cellules somatiques....	312	365	397

rés avec les chiffres moyens d'une microfilaire le jour de la prise de sang : la longueur a crû de 283 μ à 340 μ, soit un accroissement de 57 μ, c'est-à-dire égal à plus d'un cinquième de la longueur primitive ; la largeur a crû de 5,5 μ à 10 μ et même, dans certains cas, à 11 μ, soit le double de la largeur primitive. L'accroissement de taille, *in vitro,* affecte donc surtout la largeur de l'embryon et cela cor-

respond parfaitement à l'épaississement des embryons de filaire observé par Low dans les muscles du moustique hôte intermédiaire, accroissement en largeur qu'il a dénommé d'une façon imagée « stade saucisse ».

L'espace céphalique, à ce stade, présente à peu près la même grandeur, 6 μ ; immédiatement après lui, les cellules somatiques se sont multipliées, condensées, pour donner vraisemblablement une ébau-

Tableau comparatif N° 3

Distances de l'extrémité céphalique aux principaux organes	Microfilaire A 1er jour	Microfilaire B 20e jour	Microfilaire C 30e jour
Espace céphalique....	6	7	6
Tache oblique (ou anneau nerveux œsophagien).....	58	56	55
Tache en V (ou ébauche excrétrice).....	90	85	87
Corps central (milieu).	170	a disparu	a disparu
Tache caudale (ou ébauche génitale)...	237	240	184
Extension de l'ébauche génitale (pore anal compris).....	5	15	85
Tache inconstante.....	inapparente	272	280
Espace caudal (sans cellule somatique).....	19	4	20

Ces valeurs numériques sont exprimées en μ.

che pharyngienne ; la tache oblique, anucléée, a fait place à une ébauche œsophagienne ou nerveuse, située à la même distance de la tête (55 μ) et caractérisée par une multiplication cellulaire très nette; à la tache en V se sont substitués un pore excréteur bien dessiné, une ébauche des cellules et des vaisseaux excréteurs, tous situés (87 μ) à la distance habituelle qui sépare la tache en V de l'extrémité céphalique ; la 1re cellule génitale nettement apparue avant le 20e jour, s'est multipliée pour donner une première ébauche génitale ; la tache caudale qui avait été déjà remplacée par les 2e, 3e, 4e cellules génitales et par le pore anal, s'est transformée en 2e, 3e, 4e ébau-

ches génitales, très allongées par multiplication nombreuse des cellules génitales primitives et en pore anal; la tache inconstante elle-même s'est organisée pour donner une ébauche à laquelle il est bien difficile d'assigner encore une signification ; cet accroissement de taille et ces ébauches d'organes sont dus à la multiplication des cellules somatiques et génitales dont le nombre total est passé de 312 à 397 ; à savoir : de l'extrémité céphalique au pore excréteur, le nombre des cellules a crû de 120 à 165 ; il a crû de 164 à 190 dans l'espace compris entre le pore excréteur et le pore anal, et de 28 à 42 entre le pore anal et l'extrémité caudale. Les noyaux somatiques sont, dans l'ensemble, plus petits que les noyaux des cellules des embryons non cultivés. En somme, c'est au niveau des ébauches d'organes que se font les divisions nucléaires les plus nombreuses (voir tableau comparatif n° 2) et il est remarquable de constater que l'accroissement en longueur de l'embryon est dû surtout au développement précoce et important des ébauches dites génitales 2, 3 et 4 (consulter le tableau comparatif n° 3). Leur extension est passée, en effet, de 5 μ à 85 μ.

Notons encore la grande netteté de la striation cuticulaire présentée par ces microfilaires au 30e jour de culture.

Résumé

1° Nous avons pu cultiver, *in vitro*, pendant 32 jours des microfilaires de Bancroft, en sérum non chauffé, à la température du laboratoire et en employant des techniques bactériologiques simples.

2° Les embryons, dans ces conditions de culture, perdent leur gaine en quelques jours. Ce phénomène paraît lié à l'augmentation de la viscosité du milieu plutôt qu'à la baisse de sa température.

3° Dans ces mêmes conditions expérimentales, le corps central des microfilaires disparaît progressivement et complètement en une vingtaine de jours environ.

4° Au bout de trente jours de culture, les embryons de filaire ont présenté une augmentation notable de leur taille : largeur doublée et accroissement de longueur supérieur au cinquième de la longueur primitive.

5° Dans ce même laps de temps, sont apparues nettement diverses ébauches digestives, excrétrices et génitales, formées par la multiplication active des cellules somatiques et génitales des embryons.

Bibliographie

Bach (F.-W.). — Ueber die « Microfilarien Kulturen » von Wellman und Johns, nebst Bemerkungen ueber die Messung der Mikrofilarien. *Centralbl. f. Bakt. und Parasit. Orig.*, LXX, 1913, pp. 50-60.

Brumpt (E.). — *Précis de Parasitologie.* 4e édit., Masson et Cie, Paris, 1927, p. 728.

Coutelen (F.). — Essai de culture *in vitro* de scolex et d'hydatides échinococciques. *Ann. Parasitol.*, V, 1927, pp. 1-27.

— Sur l'évolution vésiculaire *in vitro* des scolex échinococciques. *Ann. Parasit.*, V, 1927, pp. 239-242.

— Contribution à l'étude de la filariose des Grenouilles. Infection et surinfection expérimentales. *Ann. Parasitol.*, V, 1928, pp. 243-244.

— Contribution aux essais de culture *in vitro* d'embryons de filaires. *Bull. soc. path. exot.*, XXI, 1928, p. 316.

— Essai de culture *in vitro* du Cénure sérial. Vésiculation des scolex. *C. R. Soc. biol.*, C, 1929, p. 619.

Foley (H.). — Etudes morphologiques sur les microfilaires à gaine (*Mf. bancrofti* et *Mf. diurna*). Observations faites chez les tirailleurs sénégalais d'Algérie. *Ann. Inst. Past.*, XXVII, 1913, p. 50.

Fülleborn (F.). — Filariosen des Menschen. *Handbuch der pathogenen Mikroorganismen*, VI, 1929, p. 1068.

Johns (F. M.) et Querens (P. L.). — Further note on the growth of filarial embryos *in vitro*. *American Journ. trop. dis. and prev. med.*, I, 1914, pp. 620-625.

Korke (V. T.). — Observations on filariasis in some areas in British India. *Indian Journal of medical research*, XVI, 1928, p. 187.

Low (G. C). — The life of filarial embryos outside of the body. *Journ. Trop. Med. and Hyg.*, XV, 1912, pp. 338-339.

Manson-Bahr (Ph.). — *Manson's Tropical Diseases.* Cassel and Cie, London, 1925, p. 505.

Nagano (K.). — Beitrag zur « Kultur » der Mikrofilarien ausserhalb des Wirtskörpers. *Arch. f. Schiffs u. Trop. Hyg.*, XXVII, 1923, p. 178-185.

Penel (R.). — *Les filaires du sang de l'homme.* F.-R. de Rudeval, Paris, 1904.

Takeshita (Sh) et Okuda (M.). — On the cultivation of Bancroft's filarial larvæ and animal inoculation experiments. *Igaku Chuo Zasshi (Central Jl. of med.)*, XXIII, n° 3. Analyse dans *Japan med. World*, V, 1925, p. 296 et *Trop. dis. Bull.*, XXIII, 1926, p. 255.

Wellman (C.) et Johns (F. M.). — The artificial culture of filarial embryos. A preliminary note. *Journ. Amer. Med. Assoc.*, LIX, 1912, p. 1531.

Laboratoire de Parasitologie de la Faculté de Médecine de Paris

NATURE ET ROLE BIOLOGIQUE DU CORPS CENTRAL INTERNE DES MICROFILAIRES

Par F. COUTELEN

I. — Historique. Fréquence du corps central interne chez les diverses microfilaires. — D'après Looss, le corps central interne des microfilaires paraît avoir été observé pour la première fois par Lewis, chez des embryons de la filaire de Bancroft. Manson, par la suite, en a donné une description restée classique (1893). Depuis cette époque, il a été revu et décrit avec quelques variantes par tous les auteurs qui ont étudié les microfilaires nocturnes de l'homme et l'on s'accorde généralement sur la constance de cette formation chez cette espèce.

Pour la microfilaire de *Loa loa*, au contraire, on admet que le corps central interne manque presque toujours et c'est même l'un des caractères qui permet de différencier cette microfilaire de la précédente ; cependant, cette absence n'est pas absolue et Manson, puis Foley (1913) et Fülleborn (1913) en avaient signalé des ébauches chez quelques échantillons. Manson pensait que cette formation était inachevée (il lui avait assigné un rôle précis, comme nous le verrons par la suite) ; Foley, sur des frottis de sang colorés au Giemsa, l'avait distinguée assez souvent sous forme de « deux masses colorées en rose pâle, représentant les extrémités renflées du corps central » et, exceptionnellement, il l'avait vue « colorée faiblement sur toute sa longueur ». Fülleborn, sur le vivant, l'avait vue représentée seulement par quelques granulations très réfringentes, colorables par le rouge neutre et, après fixation, par l'éosine et le Giemsa et il avait très justement observé que l'endroit occupé par le corps central interne chez la microfilaire de Bancroft se marque, chez la microfilaire de *Loa loa*, par une lacune claire dans la colonne des noyaux somatiques. Déjà, pour cette microfilaire, les observations des auteurs paraissaient contradictoires quant à l'existence, la morphologie ou la non existence du corps central interne.

La même incertitude apparente règne pour deux autres microfilaires de l'homme depuis longtemps étudiées, celle d'*Acanthocheilonema perstans* et celle de *Mansonella ozzardi* (= *F. demarquayi*, *F. tucumana* ?). Manson, à frais, n'a pas vu de corps central chez les embryons d'*A. perstans* ; Feldmann (1904), le recherchant à son

Annales de Parasitologie, t. VII, n° 5. — 1er septembre 1929, p. 410-418.

tour, aurait réussi à le mettre en évidence par addition d'acide acétique; Vogel (1928), reprenant cet essai, n'en confirme pas le résultat; par contre, ce même auteur, employant une coloration à l'hématoxyline, met en évidence, *in situ*, quelques granulations peu compactes. Auparavant (1913), Fülleborn, puis Meinhof, n'avaient pu le mettre en évidence sur des frottis de sang coloré; quant à nous, nous avons vu son emplacement marqué sur certains échantillons par la raréfaction des noyaux somatiques. Pour la microfilaire de *F. ozzardi*, les résultats sont aussi divergents : Manson, Fülleborn et bien d'autres auteurs n'ont pas trouvé, chez elle, de corps central interne ; Vogel (1927), par contre, a vu quelquefois dans la région où on le trouve d'habitude chez la microfilaire de Bancroft, une sorte de bâtonnet coloré de façon homogène par l'hématoxyline. Rodenwaldt (1914), étudiant les microfilaires d'*Onchocerca volvulus*, ne leur a pas trouvé de corps interne. Voilà pour les microfilaires de l'homme qui ont été étudiées avec soin et par de nombreux auteurs.

Les microfilaires des animaux domestiques, les plus connues après celles de l'homme, montrent aussi quelques différences sur l'existence du corps central interne. Les divers auteurs qui ont étudié les microfilaires de *Dirofilaria immitis* et de *Dirofilaria repens*, du chien, n'ont pas décrit chez elles de corps central ; par contre, Langeron, puis Lévy (1912), dans une thèse inspirée par le précédent auteur, ont signalé un corps central volumineux chez les microfilaires d'*Acanthocheilonema dracunculoïdes* d'un chien de Tunis. Wirth (1911) et Mandel (1911) chez la microfilaire du cheval, Balfour (1911) chez celle du chameau, ont trouvé le corps central interne ; nous l'avons nous-même recherché, sans succès, chez les embryons d'une filaire des grenouilles, *Icosiella neglecta*. Telle est la fréquence apparente du corps central interne des microfilaires.

II. — **Structure morphologique du corps interne.** — Manson, étudiant les microfilaires de Bancroft, avait décrit ainsi leur corps central : « On peut remarquer que vers la partie postérieure du tiers moyen du parasite il existe un dépôt irrégulier de matière granuleuse qui, à l'aide de colorants appropriés, apparaît comme un viscère quelconque. Cet organe occupe sur une certaine longueur l'axe du parasite. » Et Manson, assignant à cette formation la valeur d'une ébauche de l'intestin moyen, l'avait appelée « central viscus », « viscère central ». Penel, dans son travail sur les microfilaires du sang de l'homme, écrivait que « cet organe » décrit par Manson correspondait sans doute à ce que certains auteurs ont appelé « le tube digestif » ; il rappelait aussi que Remlinger l'avait

signalé comme occupant le corps de l'embryon sur toute sa longueur. L'hypothèse de Manson est devenue classique et on la trouve accréditée auprès de la plupart des auteurs qui ont écrit sur les microfilaires. Quelques auteurs, cependant, ont émis des doutes sur l'hypothèse de Manson. C'est ainsi que Fülleborn, dès 1908, trouvant trop précis le terme de « central viscus » donné par Manson à cette formation, lui substitua l'appellation plus vague de « Innenkörper », « corps interne ». C'est sous cette dénomination qu'il est couramment désigné par les auteurs allemands. Quelques auteurs français (Brumpt, Foley, etc.) qui ont étudié plus particulièrement l'anatomie des microfilaires de l'homme, l'appellent volontiers « corps central » tout en admettant le rôle biologique que Manson lui a assigné ; quant à Fülleborn, il le décrit encore comme « appartenant au tractus digestif ».

Balfour (1911), décrivant une microfilaire sanguicole du chameau, paraît être le premier à avoir émis l'hypothèse que le « central viscus » de Manson pourrait bien n'être qu'un « matériel de réserve ». Plus tard (1920), Martini, établissant un parallèle entre la situation du corps interne de l'embryon et celle des matières de réserves que l'on rencontre ordinairement dans l'intestin moyen des nématodes à l'état larvaire, se rangea à l'hypothèse de Balfour : ces deux auteurs, toutefois, n'apportèrent aucune démonstration expérimentale à cette nouvelle hypothèse.

La diversité des descriptions morphologiques, des réactions tinctoriales et le désaccord qui règne sur l'existence même du corps central interne de certaines microfilaires ainsi que sur son rôle biologique, nous a amené à en reprendre l'étude.

III. — **Recherches personnelles. Colorations vitales, post-vitales, étude physique et microchimique du corps central interne.** — Quand on examine, à frais, des microfilaires de Bancroft, un peu avant leur mort, lorsque leurs mouvements ont presque cessé, le corps central interne apparaît soit tel que l'a décrit Manson, soit sous forme d'un bâtonnet plus ou moins flexueux et allongé, plus réfringent que le reste du corps de la microfilaire. Il est à peu près situé dans l'axe longitudinal de l'embryon, étendu sur une longueur variable de 30 à 35 μ dans la partie postérieure du tiers moyen du corps, entre la cellule excrétrice en avant et la cellule génitale G1 en arrière. Sa taille étant aussi variable que la longueur de la microfilaire elle-même, il n'est pas possible de lui assigner une limite précise à partir de l'extrémité céphalique. Fülleborn a parfaitement établi qu'il ne faisait pas corps avec les cellules somatiques (très dispersées à son niveau) qui l'environnent : il se trouve allongé dans un espace creux que je serais tenté d'ap-

peler « vacuolaire » et il peut s'y déplacer légèrement au cours des mouvements de l'embryon.

L'examen sur le vivant et avec un éclairage à fond noir ne donne pas d'autre renseignement sur son aspect morphologique ; nous l'avons également examiné en lumière polarisée : il n'y présente ni biréfringence ni phénomène de croix de polarisation.

L'examen en coloration vitale nous a donné d'utiles indications. Ici, nous devons faire une remarque importante et rappeler que seul le protoplasma se colore vitalement (vacuome, chondriome) : toute cellule dont le noyau est coloré par un colorant vital est une cellule morte; on n'a plus alors affaire à une coloration vitale, mais à une coloration ordinaire, banale, post-vitale. De nombreux auteurs ont étudié l'action du rouge neutre, en coloration vitale, sur les microfilaires de Bancroft. C'est Fülleborn qui a fait, avec lui, les observations les plus intéressantes; il avait remarqué que la coloration se faisait avec plus ou moins de régularité, avec une vitesse variable, suivant les exemplaires; il avait vu le « bâton » irrégulier pâlir, tandis que, progressivement, se fonçaient les inclusions granuleuses qu'il contenait et ce processus était favorisé par la lumière de l'arc électrique; en fin de coloration, il avait constaté que le corps interne apparaissait comme une rangée granuleuse colorée par le rouge neutre avec une intensité variable suivant les points.

Voici ce que nous avons observé personnellement dans nos colorations vitales au rouge neutre. Techniquement, nous avons employé de préférence le système qui consiste à faire des frottis de solution de rouge neutre à 1 p. 100 sur des lames propres et bien dégraissées, puis à déposer une goutte de sang (ou de sérum de culture) au milieu de la lame et à recouvrir d'une lamelle qu'on lute à la paraffine. Nous avons agi de même, d'ailleurs, pour les autres colorations vitales. Il est important d'examiner de telles préparations immédiatement.

Une coloration vitale, au rouge neutre, des microfilaires de Bancroft, montre d'abord uniquement colorées quelques fines granulations éparses dans le protoplasma de l'embryon (vacuome) et, à l'emplacement du corps central interne, une zone vacuolaire, allongée en bâton irrégulièrement flexueux, teintée en un rose, pâle d'abord, puis de plus en plus vif. Au milieu de cette longue vacuole brillent, par réfringence et non teintées, des granulations de volume et de taille variables, échelonnées en amas dans l'axe de la vacuole. C'est cet amas granuleux, réfringent et non encore coloré qui constitue le « central viscus » de Manson : à ce stade, stade de coloration vitale proprement dite, rien d'autre n'est encore coloré par le rouge neutre dans l'embryon, sauf parfois quelques cellules

sous-cuticulaires voisines du pore excréteur et du pore anal, par où a pénétré le colorant et chez lesquelles, naturellement, la coloration est plus avancée. Vitalement, donc, le corps central interne ne se colore pas ; seule se colore la vacuole allongée en bâtonnet dans lequel il est étendu. A un stade ultérieur et ceci a été parfaitement vu par Fülleborn, sans qu'il l'explique toutefois, le contenu de la vacuole pâlit tandis que le colorant imprègne progressivement les grains, jusque-là incolores, du corps central interne proprement dit. A partir de cet instant il ne s'agit plus d'une coloration vitale, mais d'un phénomène tinctorial banal : les noyaux des cellules somatiques de la microfilaire se colorent progressivement et l'animal meurt. En somme, le corps central interne se colore à la longue par le rouge neutre, comme il se colore après fixation ou sans fixation, par l'éosine, le Giemsa, et même par le bleu de méthylène (Foley), l'azur II (Fülleborn), le bleu de méthyle-borax (Fülleborn), le vert de méthyle-pyronine (Treadgold). Treadgold, chez la microfilaire de *Loa loa*, et Vogel chez celle de *F. tucumana*, seraient même parvenus à le mettre en évidence par coloration à l'hématoxyline.

En résumé, la coloration vitale au rouge neutre nous a permis de constater que le corps central interne des microfilaires de Bancroft se compose de deux parties bien distinctes, un contenant et un contenu ; le contenant se présente sous la forme d'une vacuole allongée, plus ou moins irrégulière, colorable vitalement par le rouge neutre. Le contenu, corps central proprement dit, est formé de grains plus ou moins gros, plus ou moins nombreux, plus ou moins agglomérés, non colorables vitalement par le rouge neutre : ces formations représentent une image typique de vacuoles à enclaves vitellines ou à grains de sécrétion. Les grains peuvent être abondants, gros ou petits (microfilaire de Bancroft), très fins et en gros amas (microfilaire d'*Acanthocheilonema dracunculoïdes*), rares ou absents (microfilaires de *Loa loa*) et dans ce cas, ou bien la vacuole persiste (et Fülleborn en donne une excellente image), ou bien la vacuole elle-même ne peut plus être mise en évidence, mais l'emplacement du corps central interne disparu persiste comme un espace clair allongé au milieu des cellules somatiques environnantes. Nous avons retrouvé nous-même la vacuole vide de son contenu en examinant à frais, ou en coloration vitale par le rouge neutre, des microfilaires de Bancroft ayant subi un début d'évolution *in vitro* ; quant à l'espace clair, vestige du corps central, nous l'avons observé aussi sur certains exemplaires de microfilaires de *Loa loa*, de *F. tucumana* et de *Foleyella candezei*. Il est à noter que certaines microfilaires sont si épaisses ou ont des noyaux somatiques si nombreux (*Icosiella neglecta*) qu'ils doivent masquer cet

espace sur les préparations colorées ou même cacher le corps central interne s'il existe encore.

Ces détails morphologiques acquis, nous avons essayé de rechercher la nature des grains qui constituent le corps central interne proprement dit et, pour cela, nous les avons soumis à diverses actions microchimiques.

Nous avons étudié, sur des frottis de sang desséchés contenant des microfilaires de Bancroft, l'action prolongée de l'eau, de l'alcool à 70°, de l'alcool absolu, du toluène, de l'éther, du chloroforme, puis nous avons examiné ces frottis avec ou sans coloration.

Dans ces conditions, le corps central interne, nous a paru peu ou pas soluble dans l'eau et dans l'alcool à 70°. Ces corps à la longue paraissent plutôt le désagréger en fines granulations, le disperser. Il n'est pas soluble dans les solvants des corps gras ; nous avons encore éliminé les graisses et les acides gras par colorations vitales au sulfate ou au chlorhydrate de bleu Nil et par l'action de l'acide osmique ; une coloration vitale par ces sels de bleu Nil montre les lipoïdes teintés en bleu ēt uniformément répartis dans le protoplasma du corps de l'embryon ; ces lipoïdes ne sont pas plus abondants aux approches du corps central ; cette même coloration vitale nous a montré exceptionnellement quelques rares globules de graisse, teintés en rouge orange, chez des échantillons récemment recueillis, mais, par contre, nous en avons mis en évidence de plus volumineux et de plus nombreux sur des embryons conservés plusieurs jours, *in vitro,* morts, ou ne ne présentant plus que des mouvements rares et espacés ; nous avons contrôlé et confirmé cette recherche des graisses par le soudan III ; le corps interne ne s'est pas coloré par ces méthodes, pas plus qu'il n'a réduit l'acide osmique : ce n'est donc pas un corps gras.

Nous avons refait, après Fülleborn (1908), la réaction du glycogène à l'iode et elle est restée négative non seulement au niveau du corps central, comme il l'avait déjà constaté, mais encore dans toute l'étendue de l'embryon. D'ailleurs, sur le frais et dans de bonnes conditions techniques, le glycogène apparaît toujours, non pas sous forme de grains, mais à l'état diffus dans le protoplasma.

Des colorations à la thionine et au bleu de toluidine, après fixation à l'alcool absolu, n'ont pas coloré en rouge les grains du corps central, il ne s'agit donc pas de grains de mucus.

Signalons, en passant, que des recherches mitochondriales sur l'ensemble de l'embryon par coloration vitale au vert Janus ne nous ont rien donné.

Enfin, nous avons coloré de nombreux frottis de sang par les diverses méthodes préconisées par différents auteurs, afin d'examiner le corps central interne après fixation : sur les frottis de sang

fixés, il apparaît, presque toujours, sous la forme de fines granulations amassées de façon plus ou moins compacte en un « bâtonnet » irrégulier et flexueux ; il se présente rarement avec de gros grains. Notons, en passant, que la méthode de coloration la plus simple et la plus élective, celle qui, en particulier, nous a paru la plus apte, par sa polychromatophilie, à colorer les cellules excrétrices et génitales, est la méthode panoptique (May-Grünwald-Giemsa), préconisée depuis longtemps par Langeron pour toutes les recherches hématologiques et notamment pour l'étude des microfilaires.

La morphologie du corps central interne étudiée sur le frais, avec ou sans colorations vitales, sa nature granulaire, sa situation envacuolée, l'ensemble de ses réactions microchimiques, ses affinités tinctoriales mal définies, tantôt basophiles, tantôt acidophiles, tout cela plaide en faveur d'enclaves protéiques, d'un deutoplasma. L'étude comparée de ces enclaves et leur devenir, dans les principales microfilaires connues, va nous permettre rapidement de leur assigner un rôle beaucoup plus précis. Dans la note précédente, nous avons établi que le corps central interne des microfilaires de Bancroft, loin de s'organiser à mesure que les microfilaires croissent, *in vitro*, et multiplient leurs noyaux somatiques, diminue au contraire de volume. Il s'effrite, se digère jusqu'à disparition à peu près complète ; à ce stade, la coloration vitale par le rouge neutre, montre une longue vacuole vide de grains et, sur frottis colorés, l'emplacement du corps central interne est seulement marqué par un espace clair et allongé entre de rares noyaux somatiques : on retrouve ici l'image typique que l'on observe généralement chez la microfilaire de *Loa loa*. Autrement dit, le corps central interne n'est pas une formation qui est en voie d'accroissement ou d'organisation ; c'est une formation qui disparaît graduellement à mesure que la microfilaire évolue. C'est pourquoi certaines microfilaires présentent un corps central interne volumineux, d'autres n'en montrent que des vestiges, d'autres enfin ne marquent que l'emplacement de cette formation disparue. Une ébauche d'organe doit nécessairement présenter une structure cellulaire (protoplasma + noyaux) et varier dans le sens de l'accroissement : il n'en est rien ici et le « central viscus » de Manson ne saurait être envisagé comme une ébauche du tube digestif central. On ne saurait davantage se rallier à l'hypothèse de Lévy qui rattachait le corps central interne à « l'organe génital » et lui attribuait la valeur « d'éléments reproducteurs ».

Qu'est-ce alors que ces grains protéiques ? On doit, fort probablement, les considérer comme des enclaves vitellines dont la digestion progressive assure la nutrition de la microfilaire pendant les

premiers temps de sa vie embryonnaire. Il ne faut pas oublier, en effet, que les microfilaires sont, en quelque sorte, des œufs embryonnés dont les larves dépourvues de tube digestif, appartiennent encore au premier stade de leur évolution.

Treadgold, examinant des œufs embryonnés dans l'utérus même d'une filaire de Bancroft, n'aurait pas réussi à mettre en évidence un corps central interne ; cette objection, basée sur cette seule observation, ne nous paraît pas suffisante, car la coloration des enclaves vitellines des ovules ou des œufs embryonnés est extrêmement variable, souvent même impossible. Seuls se colorent bien les grains de vitellus complexes, arrivés à maturité, enrobés de lipoïdes et ayant déjà subi un commencement de digestion. Peut-être la coloration vitale au rouge neutre pourrait-elle nous fixer sur ce point important. Nous nous proposons de continuer ces recherches dans ce sens, afin de fixer avec certitude l'origine du corps central interne. Quoi qu'il en soit, nous croyons avoir suffisamment établi la nature de ses constituants et son rôle biologique durant la vie des microfilaires.

Résumé

1. Le corps central interne des microfilaires (« central-viscus », « Innenkörper ») n'est ni un viscère, ni une ébauche de tube digestif à structure cellulaire définie et en voie d'accroissement.

2. Il est formé d'un contenant, vacuole allongée colorable vitalement par le rouge neutre, et d'un contenu constitué par des plaquettes ou des grains de nombre et de volume variables.

3. Les propriétés physico-chimiques et les affinités tinctoriales de ces grains permettent de les considérer comme des enclaves protéiques.

4. La disparition progressive du corps central interne, au cours de l'évolution des microfilaires, doit faire attribuer à ces enclaves la valeur d'une réserve alimentaire d'origine ovulaire probable (vitellines).

Bibliographie

Bahr (Ph.). — *Filariasis and Elephantiasis in Fidji*, Londres, 1922.

Balfour. — Veterinary notes. *Fourth Report of the Wellcome Tropical Research laboratories at the Gordon memorial College Khartoum*, Londres, 1911, p. 347.

Brumpt (E.). — *Précis de Parasitologie*, 4e édition, Paris, Masson, 1927, p. 728.

Coutelen (F.). — Contribution à l'étude de la filariose des grenouilles. Infection et surinfection expérimentales. *Ann. de paras.*, VI, 1928, p. 196.

— Contribution aux essais de culture *in vitro* d'embryons de filaires. *Bull. Soc. path. exot.*, XXI, 1928, p. 316.

— Essai de culture *in vitro* de microfilaires de Bancroft. *Ann. de paras.*, 1929.

Feldmann. — Über *Filaria perstans* im Bezirk Bukoba. *Arch. f. Schiffs u. Trop. Hyg.*, VIII, 1904, p. 285.

Foley (H.). — Etudes morphologiques sur les microfilaires à gaine (*Mf. bancrofti* et *Mf. diurna*). *Ann. Inst. Past.*, XXVII, 1913, p. 50.

Fülleborn (F.). — Untersuchungen an menschlichen Filarien und deren Übertragung auf Stechmücken. *Arch. f. Schiffs u. Trop. Hyg.*, XII, 1908, Beih. 9, p. 5-43.

— Beiträge zur Morphologie und Differentialdiagnose der Mikrofilarien. *Arch. f. Schiffs u. Trop. Hyg.*, XVII, 1913, Beiheft 1, p. 22-24.

— Filariosen des Menschen. *Handbuch der pathogenen Mikroorganismen*, VI, 1929, p. 1080.

Langeron (M.). — *Précis de microscopie*, Paris, Masson, 1925, p. 714 à 721.

— Remarques sur les microfilaires des chiens. *3a Reunion Soc. argentina patol. region. Norte Tucuman*, 1927. *Bol. Inst. clin. quir.* III, 1927, p. 217-222.

Leber (A.) et Prowazek (S.). — Bericht über medizinische Beobachtungen auf Savaii und Mavono (Samoa). *Arch. f. Schiffs u. Trop. Hyg.*, XV, 1917, p. 409.

Lebœuf et Javelly. — Un cas de filariose chez un Européen en Nouvelle-Calédonie. *Bull. Soc. Path. exot.*, IV, 1911, p. 202.

Lévy (E.). — *Contribution à l'étude des microfilaires*. Thèse de médecine, Toulouse, 1912, p. 54.

Looss (A.). — Würmer und die von ihnen hervorgerufenen Erkrankungen. In Mense, *Handb. d. Tropenkrankh.*, 2e édit., II, 1914, p. 432-491.

Mandel. — Über eine Blutfilarie des Pferdes. *Ctrlbl. f. Bakt., Orig.*, LVII, 1911, p. 84.

Manson (P.). — The *Filariæ sanguinis hominis* and Filaria disease. In Davidsons, *Hygiene and Diseases of warm climates*, Edinbourg et Londres, 1893, p. 738 à 851.

— *Tropical diseases, a manual of the diseases of warm climates*, 4e édit. Londres, 1907.

Martini (E.). — Bemerkungen zur Anatomie der Mikrofilarien. *Arch. f. Schiffs u. Trop. Hyg.*, XXIV, 1920, p. 364-370.

Meinhof (H.). — Zur Klinik und Morphologie der *Filaria* und *Microfilaria loa* (*diurna*). *Arch. f. Schiffs u. Trop. Hyg.*, XVII, 1913, Beih. 2, p. 5-58.

Mine. — Über das endemische Vorkommen von *Mf. nocturna* in Japan. *Arch. f. Schiffs u. Trop. Hyg.*, XV. 1911, Beiheft 7, p. 357.

Penel (R.). — *Les filaires du sang de l'homme*. Thèse de médecine, Paris, de Rudeval, 1904, p. 26.

Rodenwaldt (E.). — Eine neue Mikrofilarie im Blute des Menschen. *Arch. f. Schiffs u. Trop. Hyg.*, XVIII, 1914, p. 1-12.

Treadgold (C.-H.). — On a Filaria, *Loa papionis*, n. sp., parasitic in *Papio cynocephalus*. *Parasitology*, XII, 1920, p. 113-135.

Vogel (H.). — Über *Mf. demarquayi* und die *Mikrofilaria* aus Tucuman, Argentinien. *Abhandl, a. d. Geb. d. Auslandskunde*, Hamburg Univ., XXVI, *Reihe D, medizin*, II, *Festschrift Nocht*, 1927, p. 573-584.

— Anatomie der *Mf. perstans*. *Arch. f. Schiffs u. Trop. Hyg.*, XXXII, 1928, p. 291-306.

Wirth. — Filariosen bei einheimischen Pferden. *Ztschr. f. Infekt. Krankh. d. Haustiere*, X, 1911, p. 161.

Laboratoire de Parasitologie de la Faculté de médecine de Paris.

DESCRIPTION DE LA LARVE AU PREMIER STADE DU *GASTROPHILUS INERMIS* BRAUER

LA MYIASE GASTROPHILIENNE DES JOUES CHEZ LE CHEVAL

Par G. DINULESCU

La biologie des Gastrophiles est incomplètement connue pour toutes les espèces. Ainsi, pour le *Gastrophilus inermis*, à part la description des adultes faite par Brauer et celle de la larve au 3e stade par Henry, tous les autres stades sont complètement inconnus.

M. Henry a bien voulu me faire connaître son observation inédite que la femelle de *Gastrophilus inermis* pond ses œufs sur les poils des joues du cheval et il m'a même montré un dessin de l'œuf de cette espèce. Je remercie M. Henry parce que, grâce à cette indication, j'ai eu la possibilité de déterminer les œufs de *Gastrophilus inermis* dans notre collection des œufs de Gastrophiles de Roumanie et de trouver ici, en France, sur les chevaux de l'abattoir de Paris, la larve au premier stade de cette espèce.

A propos de la biologie des larves au 1er stade des Gastrophiles, il faut noter l'observation de Roubaud sur le *G. intestinalis*. La larve de cette espèce, mise sur la muqueuse de la bouche du cobaye, s'enfonce entièrement dans la sous-muqueuse et peut y vivre un certain temps en augmentant de volume. Récemment A. et H. Hobmeier, dans leurs observations sur les larves de *G. pecorum*, montrent que la larve au 1er stade de cette espèce reste jusqu'à la première mue dans la muqueuse de la bouche du cheval. Comme exemple des lésions produites par les larves de Gastrophiles au 1er stade, Marotel donne, d'après Pecus (1), la description d'une dermatite vermiculée des joues produites par les larves au 1er stade de *G. nasalis*. Mais la dermatite et la spécificité des lésions ne sont pas bien démontrées. L'auteur ne donne pas la description des larves trouvées dans le tissu attaqué.

Les myiases rampantes (creeping disease) de l'homme, produites par les larves au 1er stade de *G. hæmorroidalis* et *G. nasalis*

(1) Marotel, dans sa *Parasitologie vétérinaire*, ne donne pas la bibliographie et nous avons le regret de n'avoir pu trouver dans la littérature des Gastrophiles aucune publication de Pecus.

Annales de Parasitologie, t. VII, n° 5. — 1er septembre 1929, p. 419-429.

(Portschinski) et de *G. intestinalis* (S. E. Corogan) sont plus clairement décrites.

Observations personnelles. — Parmi les chevaux de l'abattoir que nous avons examinés, il y en avait souvent plusieurs présentant sur les poils des joues des œufs de *G. inermis*, mais très rares. Tous les œufs étaient désoperculés. Parmi les chevaux examinés, quelques-uns présentaient de petites lésions sur la peau des joues et autour de la commissure des lèvres. Un cheval, provenant de la campagne de la partie du Nord de la France, attira notre attention par le grand nombre des œufs de *G. inermis*, par l'étendue de la dépilation et par la gravité des lésions sinueuses situées sur les joues et autour des commissures des lèvres. Nous avons recueilli sur ce cheval tous les œufs du côté gauche de la tête, au nombre de 90, et nous avons laissé sur place tous les œufs de l'autre côté. Il y avait ici encore 73 œufs. Parmi les œufs recueillis, nous en avons trouvé seulement deux exemplaires operculés, dont un contenait une petite larve mobile. En outre, nous avons pu recueillir sur le même cheval 7 œufs de *G. nasalis* fixés sur les poils de l'auge et 317 œufs de *G. intestinalis* fixés sur les pieds, à la face interne des régions carpiennes. Tous les œufs de *G. intestinalis*, désoperculés avec une aiguille, laissaient échapper une larve mobile bien développée. Le cheval ne présentait pas d'œufs de *G. hæmorroidalis*.

Description de la coque de l'œuf de Gastrophilus inermis renfermant une petite larve

L'œuf operculé a une forme ovoïde allongée et un peu aplatie sur le côté. L'opercule coupe la coque en biseau à une extrémité. A l'extrémité opposée, l'œuf a une forme conique. Il est fixé sur le poil par un manchon étendu sur toute la longueur de l'œuf. A l'extérieur, la coque est striée transversalement et chaque strie semble constituée par une crête finement denticulée qui contourne l'œuf. Ces crêtes sont d'autant plus proéminentes qu'elles se rapprochent de l'extrémité conique. A l'extrémité operculée, vers le côté supérieur, la paroi présente un orifice pour la pénétration de l'air. La petite larve, bien développée à l'intérieur de la coque, est facile à voir par transparence, si on met l'œuf dans un milieu liquide, par exemple de l'eau, entre lame et lamelle. La larve remplit la coque, ne laissant qu'un petit espace d'un côté le long de la paroi, espace qui est rempli d'air. A l'intérieur, la larve vivante présente des mouvements légers de contraction ou d'allongement (fig. 1 et 2).

Description de la larve au 1er stade

Forme. — La larve a une forme allongée à peu près fusiforme. Elle est renflée et brièvement conique vers l'extrémité céphalique, puis s'amincit graduellement en s'allongeant vers l'extrémité opposée où elle se termine par une bifurcation en deux courtes

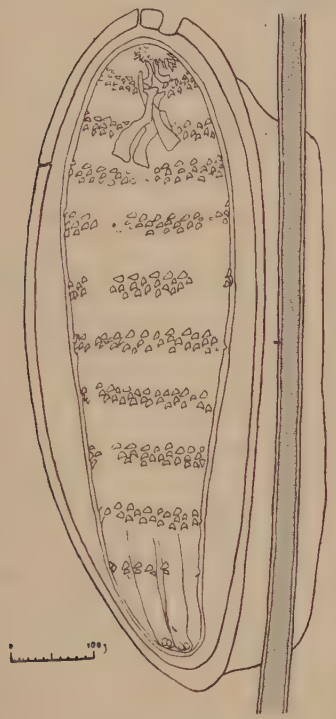

Fig. 1. — Œuf de *Gastrophilus inermis* renfermant la larve développée.

Fig. 2. — Coque désoperculée de l'œuf de *Gastrophilus inermis*.

branches au bout desquelles s'ouvrent les orifices respiratoires. Elle est composée de 13 segments dont le premier porte l'armature buccale, et le 13e porte les stigmates respiratoires.

Dimensions. — Une larve, recueillie autour de la région où sont déposés les œufs, c'est-à-dire immédiatement après la sortie de l'œuf, mesure 890 µ de longueur et 150 µ de largeur dans la partie la plus épaisse du corps. Une larve recueillie dans le pli des commissures des lèvres mesure 1.350 µ de longueur et 200 µ de largeur. La larve, en faisant le chemin du haut des joues jusqu'à la bouche, a augmenté de volume.

Fig. 3. — Larve au 1er stade de *Gastrophilus inermis* vue par la face dorsale.

Fig. 4. — Larve au 1er stade de *Gastrophilus inermis* vue par la face ventrale (la larve est un peu renversée sur le côté).

Ornements chitineux, crochets, épines. — Tous les segments, du 2e jusqu'au 12e, sont entourés d'un cordon d'épines disposé en

général en 3 rangées alternantes, sauf le 2e segment qui porte sur sa face ventrale 5 rangées et le 12e segment sur lequel la couronne est incomplète, la 3e rangée étant marquée seulement par une ou deux épines.

Comme forme et proportions, les épines présentent les variations suivantes. Sur le 2e segment, les épines de la 1re rangée ventrale sont longuement effilées et recourbées en bas en forme de crochets. Les

Fig. 5. — Extrémité céphalique de la larve au 1er stade vue par la face dorsale; *a*, organes sensoriels antenniformes; *b*, épine latérale.

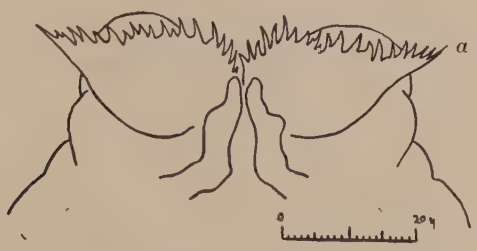

Fig. 6. — Extrémité céphalique de la larve au 1er stade vue par la face ventrale : *a*, les lames mâchoires.

épines des autres rangées inférieures diminuent en dimension de plus en plus ainsi que les épines de la 5e rangée qui sont réduites à des petits points. Sur les autres segments, les épines de la 1re rangée tout autour du corps sont les plus grandes. Elles sont implantées à peu près perpendiculairement à la surface du corps; leur forme est conique, allongée et légèrement recourbée en haut. Les épines de la rangée médiane ont une base aplatie et une extrémité recourbée en crochet. Les épines de la rangée inférieure sont semblables à celles de la rangée précédente, mais elles sont un peu plus petites. Les rangées d'épines laissent un petit espace libre sur la ligne dorsale du corps et sur les lignes latérales. Sur la ligne médiane, du côté ventral, cet espace est très réduit. Sur le corps de l'animal, on

observe d'autres petites épines courtes en forme d'aiguilles, implantées sur le milieu du corps autour du segment. On distingue du côté dorsal, du 2e au 9e segment quatre épines, sur le 10e et 11e 2 épines. Du côté ventral, sur le 2e et le 4e segments, il y a au milieu 2 groupes de 3 épines et de chaque côté latéralement sur les mêmes segments une épine. Du 5e au 13e segment, il y a 4 épines isolées ; sur le 13e segment, il y a encore, sur la face ventrale vers le bord d'invagination des deux prolongements stigmatiques, quelques épines aplaties et minces (fig. 3 et 4).

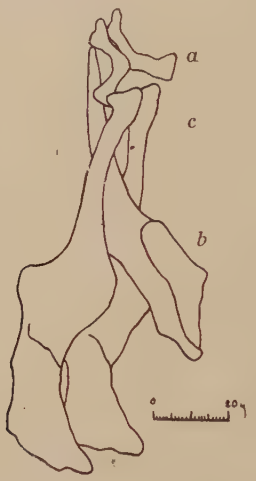

Fig. 7. — Pièces buccales de la larve au 1er stade : *a*, pièces mandibulaires ; *b*, stylet médian ; *c*, lames péripharyngiennes (basales).

Organes sensoriels et pièces buccales. — Le segment céphalique vu du côté dorsal semble divisé en deux renflements arrondis qui présentent sur leurs lignes externes une forte épine ; vers leur partie intérieure, il y a sur le segment céphalique un duvet de petites épines (fig. 5). Sur chaque renflement céphalique au milieu, il y a un organe sensoriel antenniforme (Séguy) pédiculé et à côté trois autres petits organes sensoriels en forme de petit tronc de cône. Du côté ventral, le segment céphalique présente deux grandes plaques chitineuses, qui ressemblent à deux mâchoires, elles sont fortement denticulées antérieurement en dents de scie, arrondies du côté intérieur et terminées en pointe effilée du côté latéral du corps (fig. 6).

Les pièces buccales proprement dites se composent d'un stylet

médian et de deux pièces mandibulaires latérales qui s'appuient sur deux autres pièces allongées et aplaties vers la moitié inférieure et qui sont parallèles au pharynx. Les deux pièces mandibulaires semblent articulées sur les deux pièces péripharyngiennes ou basales (Séguy). Le stylet médian s'insère par sa base aplatie inférieurement et laisse passer sa lame entre les deux pièces mandibulaires et péripharyngiennes (fig. 7).

Appareil respiratoire. — Comme organe intérieur, on ne voit par transparence que les deux troncs trachéens qui donnent des ramifications dans chaque segment du corps et se terminent dans les prolongements stigmatiques. A partir du 12e segment, les troncs trachéens présentent une paroi épaissie par un réseau chitineux donnant à cet organe l'aspect d'une éponge. Ce trajet spongieux est renflé en une sorte de poche vers l'extrémité postérieure qui s'ouvre à l'extérieur, vers la face dorsale, par deux fentes respiratoires soutenues aussi par une charpente chitineuse. Les deux prolongements stigmatiques du 13e segment peuvent s'invaginer d'une moitié dans le corps de l'animal. L'extrémité céphalique et le 2e segment peuvent aussi subir une invagination à l'intérieur du corps (fig. 3).

Evolution de la larve au 1er stade a la surface des joues et dans la muqueuse de la bouche

La femelle de *G. inermis* pond ses œufs (1) sur les poils de la face du cheval. Ils sont collés vers la racine des poils, de sorte qu'ils semblent cachés parmi ces derniers. La position de l'œuf, fixé au poil par toute sa longueur, semble favorable pour permettre aux petites larves de rester entre les poils. Les œufs de *G. inermis* sont disposés de la même manière que les œufs de *G. nasalis*, qui sont fixés sur les poils de l'auge et dont les jeunes larves peuvent éclore spontanément. Cameron et Hadwen ont observé que 51 p. 100 des œufs de *G. nasalis* se désoperculent sans influence mécanique extérieure. Chez le cheval sur lequel nous avons fait nos observations, il y avait d'un côté de la tête 90 et de l'autre côté 73 œufs de *G. inermis* et de tous ces œufs deux seulement étaient operculés, l'un

(1) Ayant obtenu plusieurs femelles de *G. inermis* de l'élevage des larves au 3e stade, nous avons disséqué deux exemplaires pour compter le nombre des œufs. Nous avons trouvé pour une femelle 328 et pour l'autre 357.

contenant une larve vivante et l'autre non évolué. Les sept œufs de *G. nasalis* étaient aussi désoperculés et, parmi les 316 œufs de *G. intestinalis*, deux tiers, operculés, contenaient des larves vivantes qui attendaient l'éclosion. On sait que les œufs de *G. intestinalis* ne peuvent éclore que sous une influence mécanique extérieure (Portschinski). Il est donc probable que les larves au premier stade de *G. inermis* peuvent, comme celles de *G. nasalis*, éclore spontanément.

Les larves, dès qu'elles sont sorties de la coque des œufs, se dirigent en bas sur les joues, vers la bouche du cheval. Pour trouver les petites larves sur la face du cheval et pour préciser leur chemin, nous avons fait différents raclages le long des lésions du côté gauche de la tête, toujours en descendant de la région dépilée jusqu'en bas des lésions, vers la commissure des lèvres. Nous avons fait ainsi une série de sept raclages, que nous avons mis séparément en sept boîtes de Pétri. En mélangeant bien le raclage avec de l'eau, nous avons vu les larves tomber au fond des boîtes. Nous avons trouvé les chiffres suivants : dans le raclage pris avant la limite de la région dépilée : 3 larves ; dans deux raclages de la région couverte de croûtes : 2 et 1 larves ; dans trois raclages de la région parcheminée des sillons et des crevasses : 10, 7 et 13 larves ; dans un raclage fait dans le pli de la commissure des lèvres : 26 larves. En étalant sous le binoculaire toute la paroi latérale de la bouche et en examinant de la commissure des lèvres vers l'intérieur, nous avons recueilli, au fond des divers sillons, quatre larves. Puis nous avons vu par transparence à travers la muqueuse encore 11 larves plongées dans les galeries creusées dans le tissu. *Toutes les larves récoltées, au nombre de 74, appartenaient à l'espèce* G. inermis.

Les larves plongées dans les tissus de la muqueuse étaient orientées parallèlement à la surface de la muqueuse vers le fond de la bouche et quelquefois deux ou trois étaient alignées l'une après l'autre. La taille des larves n'était pas partout égale. Cette taille augmentait à mesure que les larves étaient plus loin, à l'intérieur de la bouche. Les larves recueillies dans les sillons de la muqueuse de la bouche présentent des dimensions à peu près deux fois plus grandes que les larves recueillies très loin de la bouche, sous la région où étaient déposés les œufs. Deux larves au 1er stade qui avaient doublé de dimensions présentaient sous leur cuticule l'ébauche du nouveau tégument du stade larvaire suivant.

Lésions produites par les larves.
La myiase gastrophilienne des joues du cheval

Les lésions commencent par une dépilation qui contourne toute la région supérieure des joues. Cette dépilation est causée par les petites larves qui, après leur sortie de l'œuf, cherchent à faire leur chemin à travers l'épiderme. Plus bas, à mesure que les larves s'avancent et s'enfoncent dans l'épiderme, la région se couvre de nombreuses croûtes. Vers le milieu de la région des joues, les larves entrent dans de petits sillons qui se prolongent par de vraies galeries sous-épidermiques. Ces faits se traduisent à la surface par de petites traînées ondulées ; quelques-unes de ces traînées sont découvertes et alors on voit le fond des galeries plein d'une sécrétion séreuse. Par confluence, ces traînées fistuleuses donnent naissance à des crevasses.

En général, les galeries sous-épidermiques ont des formes sinueuses ou serpentiformes et sont de largeur uniforme. Elles ne présentent pas les boutons signalés dans les dermatites vermiculées décrites auparavant. Vers la commissure des lèvres, les crevasses s'approfondissent de plus en plus et contournent en dedans le pli de la commissure. Dans cet endroit, où les larves se ramassent en grande quantité, l'épiderme est partiellement enlevé et les plaies confluentes sont couvertes d'une sécrétion fétide. Il y a ici dans les tissus des points de nécrose. De cette région, les larves remontent dans la muqueuse de la bouche ; les traînées fistuleuses réapparaissent et elles prennent une direction un peu divergente, se dirigeant ensuite parallèlement vers le milieu de la région. Ici, les traînées sont découvertes par l'enlèvement de la couche épithéliale de la muqueuse et les plaies sont souillées par des débris alimentaires.

Les traînées fistuleuses ou les crevasses ont des dimensions qui varient de 0 mm. 5 à 7 mm. de largeur, avec 4 mm. de profondeur. Les crevasses ont, dans le pli de la commissure des lèvres, une profondeur de 5 à 8 mm. Elles sont d'autant plus profondes que la couche épidermique ou épithéliale est plus épaisse. Nous n'avons pas observé de lésions sur les gencives ou sous la langue.

Dans les différentes coupes, nous avons observé que, dans la bouche, les larves cheminent surtout dans la couche sous-épithéliale de la muqueuse, et, à l'endroit de la commissure des lèvres, elles cheminent dans la couche papillaire dermique. La couche épithéliale est quelquefois déchirée à l'endroit des traînées fistuleuses. Le canal où cheminent les larves est fistuleux et rempli de

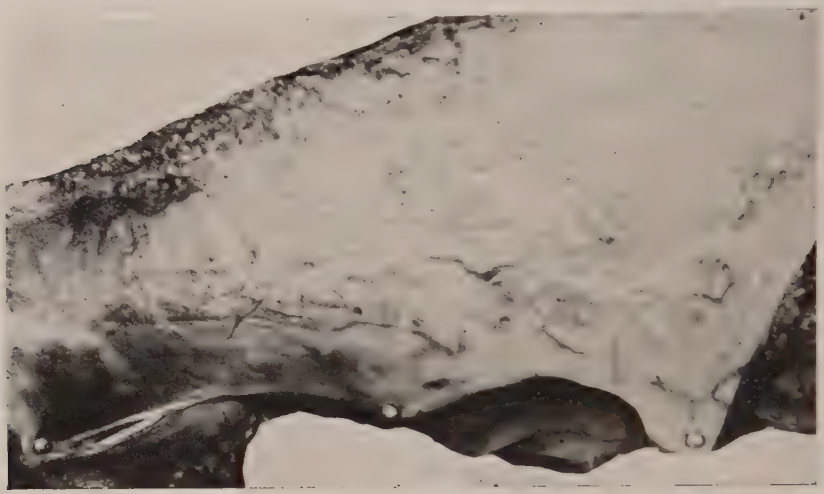

FIG. 1.

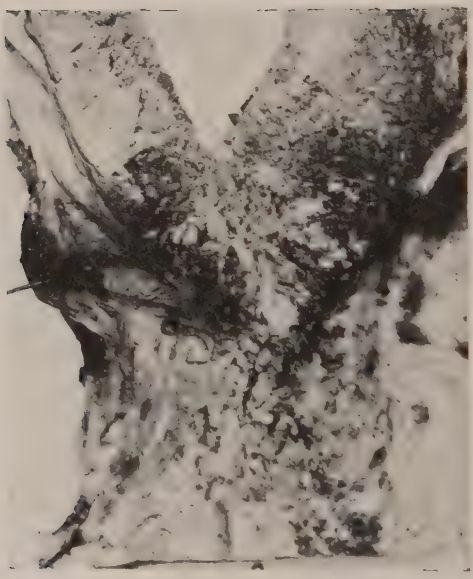

FIG. 2.

FIG. 3.

FIG. 1.

FIG. 2.

œufs qui sont déposés sur les poils de la face du cheval et cheminent à l'intérieur de la peau des joues, pour arriver dans la muqueuse de la bouche où elles restent jusqu'à la première mue. Dans leur évolution, ces larves produisent des lésions caractéristiques d'une affection que nous désignons sous le nom de *myiase gastrophilienne des joues du cheval.*

Bibliographie

Brauer (F.). — *Monographie der Œstriden*, Vienne, 1863, p. 73-75.

Brumpt (E.). — *Précis de parasitologie*, 4e édition, 1927, p. 1050-1051.

Cameron et Hadwen (A.). — Contribution to the knowledge of the Bot flies, *Gastrophilus intestinalis* Deg., *G. hæmorroidalis* L. and *G. nasalis* L. *Bull. of entomol. research*, IX, 1918, p. 98.

Cholodkowsky (N.). — Uber *Gastrophilus* Larven in der Menschenhaut. *Zool. Anzeiger*, XXXIII, 1908, p. 409-413.

Henry (A.). — Une nouvelle larve de Gastrophile chez le cheval. *Recueil de Méd. vétér.*, LXXXVI, 1909, p. 319-321.

Hobmeier (A. et H.). — Morphologie und Biologie der Larve von *Gastrophilus pecorum*. *Centralblatt f. Bakt., Orig.*, CVIII, 1928, p. 163-169.

Marotel (G.). — *Parasitologie vétérinaire*, 1927, p. 342.

Portschinski (Y.). — Sur les larves de *Gastrophilus*. *Zool. Anz.*, XXXV, 1910, p. 665-670.

Roubaud (M.-E.). — Autoinoculation et développement primaire dans les muqueuses buccales de la larve du *Gastrophilus equi*. *C. R. Acad. Sc.*, CLXIV, 1917, p. 453.

Seguy (F,). — *Mouches parasites*, I. *Encyclopédie entomologie*, IX, Paris, Lechevalier, 1928.

Laboratoire de parasitologie de la Faculté de médecine de Paris.

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DES PHLÉBOTOMES DE ROUMANIE

Par Virgil NITZULESCU

A notre connaissance, il n'existe qu'une seule indication bibliographique sur les phlébotomes de Roumanie, c'est la note du Prof. N. Léon, datée de 1910, et concernant deux phlébotomes femelles identifiés par ce savant comme des *P. papatasi*.

Or, en 1928, par une soirée sèche et chaude du commencement du mois d'août, nous avons eu la chance de capturer à l'intérieur d'une maison située au centre de la ville de Bucarest (rue Sagetei) un exemplaire de phlébotome mâle, d'une couleur jaune clair excessivement pâle. Ce phlébotome, ressemblant au premier abord au *Phlebotomus perniciosus* de Newstead, nous paraît intéressant et nous donnons ci-après la description détaillée de ses particularités anatomiques.

DESCRIPTION. — *Taille.*

Clypeus et tête	432 μ
Thorax	634 μ
Abdomen	1.306 μ
1er segment du crochet supérieur de l'armature génitale	420 μ

Donc, longueur totale, premier segment du crochet supérieur de l'armature génitale compris, 2.793 μ, soit en chiffres ronds 2 mm., 8.

Distance du bord antérieur de l'œil à l'extrémité du labium	422 μ
Diamètre antéro-postérieur de l'œil	192 μ
Epipharynx	278 μ

Les *antennes* présentent des différences minimes de longueur, de 5 à 10 μ, entre les articles correspondants. En général, ceux de l'antenne droite sont les plus longs, surtout entre le 4e et le 12e articles.

Voici les dimensions de l'antenne gauche :

ANNALES DE PARASITOLOGIE, T. VII, N° 5. — 1er septembre 1929, p. 430-437.

Segm. I	80 μ	
Segm. II	80 μ	
Segm. III	507 μ	III > IV + V
Segm. IV	191 μ	III < IV + V + VI
Segm. V	194 μ	III > XII-XVI
Segm. VI	182 μ	IV + V < XII-XVI
Segm. VII	176 μ	IV + V + VI > XII-XVI
Segm. VIII	154 μ	
Segm. IX	144 μ	
Segm. X	133 μ	
Segm. XI	130 μ	
Segm. XII	123 μ	
Segm. XIII	109 μ	
Segm. XIV	84 μ	
Segm. XV	74 μ	
Segm. XVI	85 μ	

Total de l'antenne gauche : 2.446 μ.

FIG. 1. — Exemplaire de *Phlebotomus major* var. *longiductus* trouvé à Bucarest. Microphotographie originale.

Les palpes présentent la formule : 1,4,(2,3),5.

Art. 4	185 μ
Art. 2	227 μ
Art. 3	226 μ

Les pattes (fig. 2).

Troisième paire de pattes :

Fémur	976 µ
Tibia	1.883 µ
Tarse 1	1.104 µ
Tarse 2	511 µ
Tarse 3-5	581 µ

$$\frac{\text{Tarse 1}}{\text{Tarse 2}} = 2{,}15$$

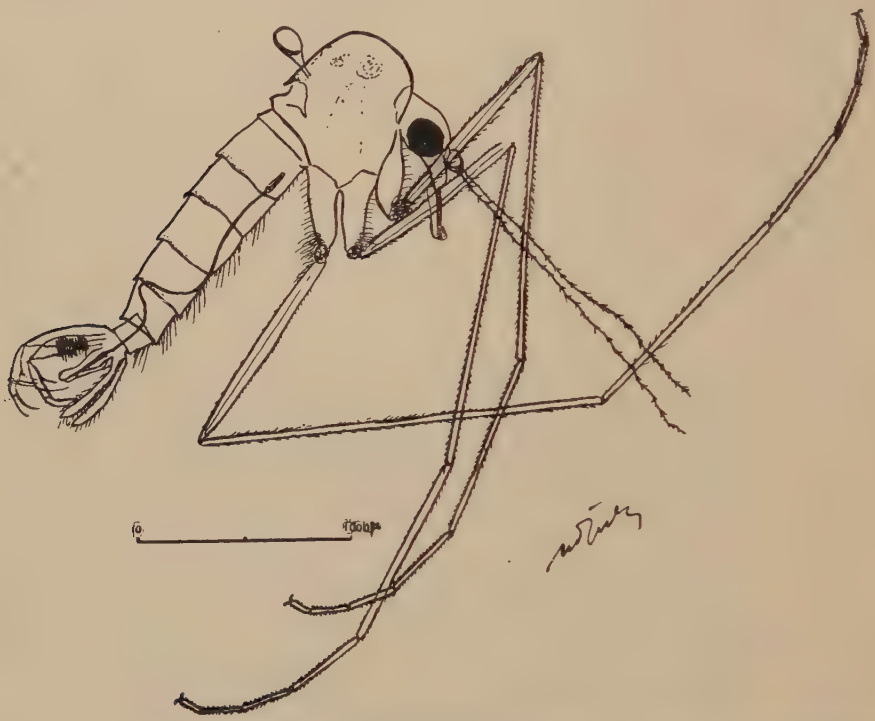

Fig. 2. — Croquis simplifié de l'exemplaire de *Phlebotomus major* var. *longiductus* trouvé à Bucarest.

Deuxième paire de pattes :

Fémur	860 µ
Tibia	1.558 µ
Tarse 1	930 µ
Tarse 2	395 µ
Tarse 3-5	535 µ

$$\frac{\text{Tarse 1}}{\text{Tarse 2}} = 2{,}35$$

Première paire de pattes :

Fémur	953 µ
Tibia	1.418 µ
Tarse 1	837 µ
Tarse 2	372 µ
Tarse 3-5	534 µ

$$\frac{\text{Tarse 1}}{\text{Tarse 2}} = 2{,}25$$

$$\frac{\text{Longueur de la troisième paire de pattes sans coxa ni trochanter}}{\text{Longueur du corps}} = 1,8$$

$$\frac{\text{Longueur de la première paire de pattes sans coxa ni trochanter}}{\text{Longueur du corps}} = 1,4$$

L'aile (fig. 1).

Le bord postérieur de l'aile est plus arqué que le bord antérieur.

Longueur de l'aile ..... 2.560 μ
Largeur maxima ..... 760 μ

$$\frac{\text{Longueur de l'aile}}{\text{Larg. maxima de l'aile}} = 3,37 \qquad \frac{\text{Longueur du corps}}{\text{Longueur de l'aile}} = 1,091$$

Nervures :

α ..... 590 μ
β ..... 420 μ
δ ..... 170 μ

$$\frac{\alpha}{\beta} = 1,40 \qquad \frac{\alpha}{\delta} = 3,47$$

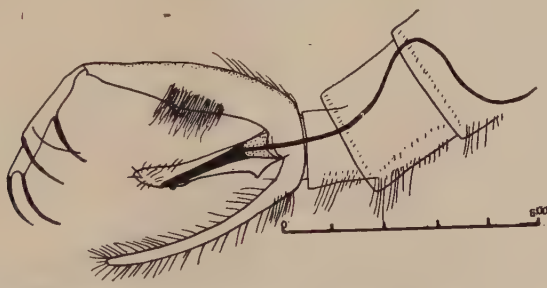

Fig. 3. — Armature génitale. Remarquer la touffe de poils du premier segment du crochet supérieur et le tubercule inférieur de l'organe intromittent.

La fourche postérieure de la deuxième longitudinale est plus rapprochée de la base de l'aile que la fourche de la quatrième.

L'armature génitale (fig. 3).

Le deuxième segment du crochet supérieur présente 5 longues épines (type *major* ou *perniciosus*). Le deuxième segment mesure à peu près la moitié du premier.

Crochet supérieur { Premier segment ..... 420 μ
Deuxième segment .... 234 μ
Crochet inférieur ..... 430 μ
Appendices intermédiaires ..... 327 μ

$$\frac{\text{Segm. 1}}{\text{Segm. 2}} = 1,794$$

Au milieu de la face interne du premier segment, on trouve une touffe sessile de poils longs et serrés, mesurant 136 μ en largeur. Sur le deuxième segment, on trouve 5 épines dont deux apicales, deux internes un peu au-dessous du milieu de l'article et une externe sub-médiane, au-dessus du milieu de l'article. Les épines ne sont pas égales. Leur longueur varie entre 107 et 146 μ, une des deux apicales étant la plus longue. Les cro-

chets inférieurs de l'armature génitale ne sont pas armés. *Le pénis présente une saillie sub-apicale inférieure. Les filaments génitaux sont excessivement longs.* On les voit comme une double ligne sinueuse, parcourant toute la longueur de l'abdomen. La *pompe* est située dans la *partie proximale de l'abdomen.* Du côté du pénis, les filaments génitaux ne sortent pas par l'extrémité distale de cet organe, comme chez *P. perniciosus.*

Fig. 4. — Appendice intermédiaire et organe intromittent.

Discussion. — Si nous nous rapportons à la clef de détermination des phlébotomes européens donné par F. Larrousse (1921) dans son très important travail sur la systématique des phlébotomes, nous sommes contraints de rapprocher, comme nous l'avons déjà fait, notre exemplaire de *P. perniciosus* Newst., à cause des 5 longues épines du segment terminal du crochet supérieur. Si toutefois, nous comparons notre exemplaire à des échantillons de *P. perniciosus* typiques, nous constatons des différences appréciables, qui nous donneraient le droit de penser à une variété nouvelle.

Nous devons exprimer ici toute notre reconnaissance à M. le Prof. Roubaud qui a eu l'extrême amabilité de nous communiquer un lot de *P. perniciosus* provenant de ses admirables élevages de l'Institut Pasteur de Paris.

Grâce à ces phlébotomes et aux descriptions classiques de Newstead (1911) et de Larrousse (1921) nous avons pu faire la comparaison entre le *P. perniciosus* typique et la variété de Bucarest. Voici quelques-unes des différences constatées :

I. La touffe de poils du crochet supérieur de l'armature génitale, extrêmement développée dans notre exemplaire, est la plupart du temps tellement peu importante chez *P. perniciosus*, qu'on s'explique facilement pourquoi elle a été négligée dans les descriptions et les dessins de Newstead et de Larrousse. Elle a été de même négligée dans les descriptions et les dessins des deux variétés de *P. perniciosus* (*P. lusitanicus* et *P. legeri*) créées d'abord comme espèces, puis tombées depuis en synonymie avec *P. perniciosus* type (França, 1918 et Mansion, 1913 et 1918).

II. L'organe intromittent, décrit comme bifide par Newstead (1911), présente une saillie sub-apicale inférieure dans notre exemplaire. Nous avons cherché en vain cette saillie dans tous les exemplaires de Roubaud.

III. Les filaments génitaux sortent toujours du pénis, chez le *P. perniciosus,* sur une distance égale à la moitié au moins de cet organe. Chez notre exemplaire, les filaments génitaux ne dépassent pas l'extrémité distale de l'organe intromittent.

IV. Les filaments génitaux sont très courts chez le *P. perniciosus,* et la *pompe* se trouve dans la partie distale de l'abdomen. Les filaments génitaux sont excessivement longs chez notre exemplaire. La *pompe* est située dans la partie proximale de l'abdomen.

Parmi toutes ces différences, la plus importante est évidemment la dernière, car elle dénote une modification correspondante de l'organisation interne (forme et position des testicules et des canaux déférents). La question qui doit être posée maintenant est la suivante : S'agit-il d'une anomalie quelconque, d'une monstruosité ? Ou s'agit-il de la présence en Roumanie d'une variété nouvelle de phlébotome bien caractérisée ?

Nous n'avons trouvé jusqu'ici qu'un seul exemplaire (celui qui est décrit ici) et nous aurions conclu à une anomalie si nous n'avions consulté un article de Parrot où nous avons justement trouvé la description d'un phlébotome à conduit génital très long, dont cet auteur a fait une variété à part, à détacher de *P. major* Annand., sous la dénomination suggestive de *P. major* var. *longiductus.*

Or, non seulement les filaments génitaux longs, mais tous les autres caractères que nous avons cités comme différenciant notre exemplaire de Bucarest du type *perniciosus* de Newstead sont exactement les mêmes dans la description de Parrot. Pour le *P. major* var. *longiductus* de Parrot, la même touffe de poils bien développée, le même tubercule inférieur de l'organe intromittent, les mêmes filaments génitaux ne dépassant pas en arrière le pénis, mais arrivant en ligne sinueuse jusqu'à la partie proximale de l'abdomen où se trouve la *pompe.* Les autres caractères concordent aussi. Le même indice alaire, la même formule palpale, les mêmes rapports entre les longueurs respectives des articles de l'antenne. On pourrait dire que les deux descriptions, celle de Parrot et la nôtre sont superposables.

La forme de la *pompe* n'a pas été donnée par Parrot. Nous la trouvons dans un mémoire de Perfiliev (1928) sur l'anatomie des différentes espèces de phlébotomes. Elle est exactement la même dans notre exemplaire (fig. 5).

Après avoir étudié la note de Parrot, nous ne sommes plus auto-

risés à ne considérer le phlébotome unique capturé à Bucarest que comme une anomalie quelconque du type *perniciosus*. Il serait bizarre d'avoir affaire à une anomalie multiple qui grouperait tous les caractères d'un type à part bien caractérisable. Il semble évident au contraire, que, quoique nous n'ayons trouvé qu'un seul exemplaire, nous soyons cependant en droit de rapporter cet exemplaire à la variété *longiductus* de Parrot. C'est la première fois que cette variété est citée en Europe.

Il est à noter que tout récemment cette variété *longiductus* elle-même a été mise en discussion. En effet, Sinton (1928) reprenant

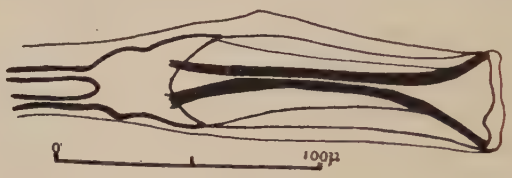

Fig. 5. — La *pompe*.

l'étude des phlébotomes asiatiques, note pour le *P. chinensis* une quantité de caractères, qui avaient échappé aux descriptions de Newstead (1911) et de Patton (1926). Ces caractères devraient, d'après Sinton, faire considérer la variété *chinensis* de *P. major* comme une espèce indépendante. Or, parmi les caractères mis en relief par ce dernier auteur, on trouve aussi ceux qui avaient servi à Parrot pour établir sa nouvelle variété *longiductus* de *P. major*, notamment : le filament génital long, la *pompe* proximale, le tubercule inférieur de l'organe intromittent (rien sur la touffe de poils ni sur la formule tarsale de Patton). En se basant sur ces caractères, Sinton ne reconnaît plus la variété *longiductus* comme telle, mais la fait tomber en synonymie avec *P. chinensis*, dont l'aire de distribution serait extrêmement étendue dans toute l'Asie, de la Chine au Caucase.

Bibliographie

França (C.). — Note sur les espèces portugaises du genre *Phlebotomus*. *Bull. Soc. pathol. exot.*, XI, 1918, p. 730.

Larrousse (F.). — *Etude systématique et médicale des phlébotomes*. Thèse de doctorat en médecine, Paris, 1921.

Léon (N.). — Note sur les diptères buveurs de sang de Roumanie. *Centralbl. für Bakt., Orig.*, LIV, 1910, p. 521-523.

MANSION (G.). — Les phlébotomes en Corse. *Bull. Soc. pathol. exot.*, VII, 1913, p. 637.

— Les phlébotomes européens. *Bull. Soc. pathol. exot.*, XI, 1918, p. 730.

NEWSTEAD (R.). — The papataci flies of the maltese islands. *Bull. of entomol. res.*, II, 1911, p. 47.

— On the genus *Phlebotomus*. Part III. *Phlebotomus major* var. *chinensis*. *Bull. of entomol. res.*, VII, 1916, p. 191.

PARROT (L.). — Sur quelques phlébotomes de la Bokhara. *Arch. Inst. Pasteur Algérie*, VI, 1928, p. 29.

PATTON et HINDLE. — Notes on the species of sandflies (Genus *Phlebotomus*) of North China. *Proc. roy. Soc.* (B), C, 10 déc. 1926.

PERFILIEV (P.). — Zur vergleichenden Anatomie von *Phlebotomus*. *Ztschr. für Parasitenkunde*, I, 1928.

SINTON (J.). — The synonymy of the asiatic species of *Phlebotomus*. *Indian journ. of med. res.*, XVI, 1928, p. 297-324.

Laboratoire de Parasitologie de la Faculté de Médecine de Bucarest.

UN NOUVEAU *TRICHOPHYTON ENDOTHRIX*, *TRICHOPHYTON AREOLATUM* n. sp.

Par P. NEGRONI

Ce *Trichophyton* a été isolé il y a trois mois, d'un cas de trichophytie banale du cuir chevelu, chez un enfant français (Denise K.), âgé de 2 ans et demi. Aucun caractère clinique ne permettait de différencier ce cas de ceux de trichophytie à *endothrix*.

Le parasite est *endothrix* dans les cheveux qui sont cassés, courts et très fragiles ; à l'examen microscopique ils se présentent bourrés de chaînes de spores.

Le développement sur les milieux d'épreuve de Sabouraud

Fig. 1. — Colonie géante du *Trichophyton areolatum* après un mois.

commence sous la forme d'une touffe poilue blanche au-dessus d'une petite coupole glabre. A cette période, la ressemblance avec le *Trichophyton acuminatum* est très grande. Mais au bout d'une semaine, les colonies, même en restant acuminées, deviennent rouge pourpre et finalement se couvrent d'un duvet blanc très fin.

La colonie géante sur le milieu d'épreuve maltosé est très typique. Elle atteint au bout d'un mois, à la température du laboratoire, un diamètre d'environ quatre centimètres et présente l'aspect d'une cocarde, comme le démontre la fig. 1. Une touffe de duvet blanc et

Annales de Parasitologie, t. VII, n° 5. — 1er septembre 1929, p. 438-443.

fin, fait saillie au-milieu de la colonie qui est divisée en deux parties par un sillon circulaire assez profond. La partie centrale, d'environ deux centimètres de diamètre, est d'un rouge pourpre sale et couverte d'un duvet laineux très fin et court.

Dans la partie périphérique de la colonie, on peut différencier quatre zones : la première est constituée par un rebord rouge saillant et festonné, en contact avec le sillon mentionné plus haut ; la deuxième est blanchâtre, pulvérulente ; la troisième est une zone d'un blanc sale, glabre, brillante et humide; enfin la quatrième zone,

Fig. 2. — Culture pléomorphique, à gauche et développement sur milieu de conservation, à droite.

la plus externe, est radiée, mal délimitée, et représente la zone d'extension du mycélium.

La colonie est traversée par des sillons radiés, séparés les uns des autres par une distance d'environ un centimètre et parmi eux on voit, dans la partie périphérique de la colonie, d'autres sillons moins prononcés. Dans la partie centrale de la colonie quelques sillons sont crevassés.

Sur le milieu de conservation (fig. 2), la colonie est d'un rouge brunâtre et présente un aspect humide et brillant. Son centre est acuminé et surmonté par une touffe de filaments conglomérés en épines (*funiculum*). La colonie est traversée du centre à la périphérie par une douzaine de sillons radiés. Elle est bordée d'une

auréole blanchâtre. Tous les caractères de développement sur les milieux d'épreuve et de conservation se reproduisent en série.

Ce parasite devient pléomorphique (fig. 2) assez rapidement et on peut arriver à isoler le duvet blanc stérile. Ce caractère éloigne ce champignon du *T. acuminatum* qui ne se pléomorphise jamais.

En examinant au microscope la tranche d'un secteur de la colonie, coupé au bistouri, on constate un léger lacis mycélien ainsi que

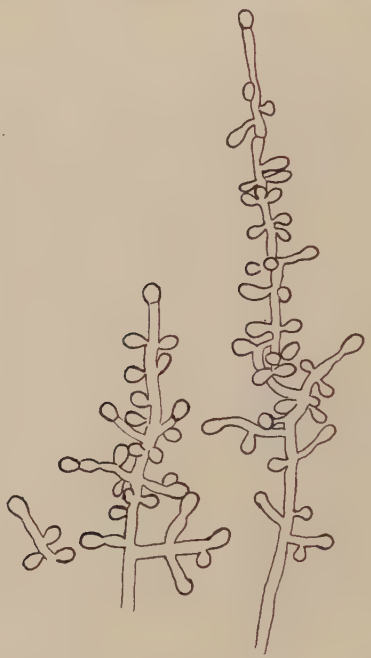

Fig. 3. — Fructification conidienne du *Trichophyton areolatum*.

des thyrses sporifères et des grappes de conidies dressées sur le mycélium.

Pour observer le développement sur place sans altérer sa disposition, nous avons cultivé le parasite en cylindres de Borrel. On stérilise le cylindre couvert d'un capuchon de papier et contenant quelques centimètres cubes de bouillon maltosé ainsi que trois lames séparées par un prisme de verre. Sur une face de ces lames on laisse tomber une goutte d'agar maltosé fondu, on l'étale (comme pour faire un frottis de sang) avec une lamelle flambée et on remet les lames à leur place. Finalement on ensemence avec toutes les précautions d'asepsie.

Le champignon monte et se développe sur les lames. On les retire

pour les examiner directement au microscope, on les colore et on monte à la glycérine gélatinée ou au baume. La figure 3 reproduit des dessins obtenus par le procédé qui vient d'être indiqué.

Conclusion. — 1. La parasite en question est *endothrix* dans les cheveux.

2. Comme tous les *endothrix* il présente sur les milieux d'épreuve, des conidies comme seuls organes de fructification.

3. En raison de son pléomorphisme, de sa couleur spéciale, rouge

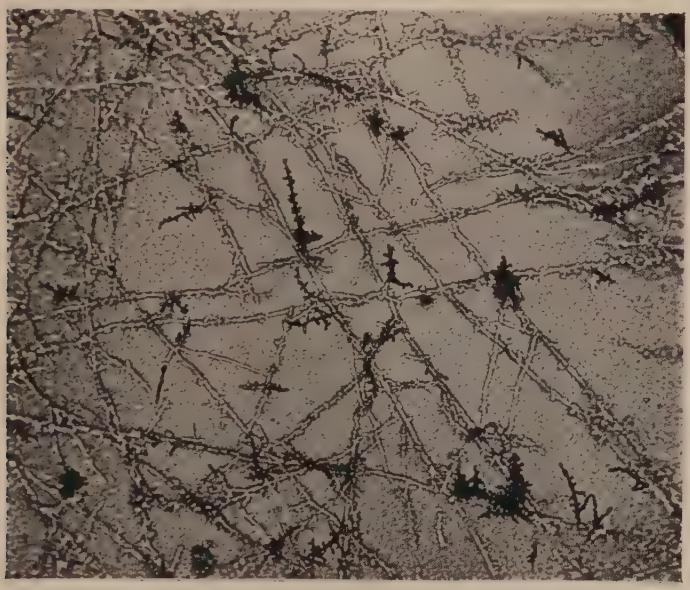

Fig. 4. — Photographie d'une culture sur lame du *Trichophyton areolatum*.

pourpre, de la forme de la colonie géante (tous ces caractères se reproduisent en série), nous pensons qu'il constitue une espèce nouvelle du groupe des *endothrix*.

Nous désignons cette espèce sous le nom de *Trichophyton areolatum* qui souligne la disposition en cocarde de ses colonies sur les milieux d'épreuve de Sabouraud.

Etude cytologique (1). — A l'état frais, ce champignon se présente sous la forme de filaments de diamètre variable, parfois divisés par dichotomie. A l'intérieur on aperçoit le protoplasma granuleux, le

(1) Cette étude a été faite au Laboratoire du Prof. Guilliermond, à la Faculté des sciences de Paris.

système vacuolaire et des granulations très réfringentes et osmioréductrices qui sont des granulations graisseuses.

A l'extrémité des filaments, les vacuoles sont rondes, très petites et nombreuses, puis deviennent moins nombreuses, plus grandes et s'allongent dans le sens du filament. Parfois on observe dans l'intérieur des vacuoles des granulations plus réfringentes que le suc vacuolaire et animées de vifs mouvements browniens.

Les conidies sont réfringentes et d'une constitution uniforme.

A l'examen au fond noir, les filaments vivants sont optiquement vides ; seules les granulations graisseuses sont visibles grâce à leur réfringence. Les filaments morts sont remplis de granulations très réfringentes qui représentent le protoplasma coagulé.

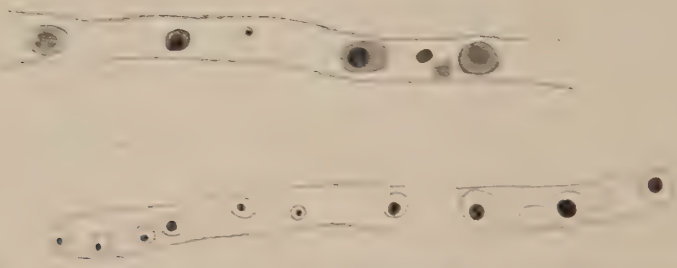

Fig. 5. — Système vacuolaire du *Trichophyton areolatum*, après l'action d'un colorant vital (rouge neutre).

Quand on fait agir un colorant vital, une solution faible de rouge neutre, par exemple, on constate l'apparition presque immédiate de ces corpuscules à l'intérieur des vacuoles (fig. 5). Ils prennent une coloration rouge pourpre et continuent à s'agiter pendant quelques minutes ; ils deviennent ensuite immobiles et se fixent à la paroi vacuolaire. Ces corpuscules, tout en restant arrondis, deviennent de plus en plus pâles, tandis que le suc vacuolaire commence à prendre une coloration rouge brique. Finalement, les corpuscules se dissolvent de nouveau dans le suc vacuolaire.

Les graisses se colorent vitalement en bleu par le bleu d'indophénol. Elles se présentent sous la forme de fines granulations, localisées spécialement autour des vacuoles.

La coloration vitale du chondriome avec le vert janus ou le violet dahlia, est très difficile par suite de la lenteur de pénétration du colorant.

En faisant agir la solution de Lugol diluée, on colore, le glycogène qui se présente distribué dans le protoplasma sous forme de fines granulations d'un brun acajou ou parfois accumulé en îlots (fig. 6).

Examen cytologique après fixation. — Si on fixe les filaments du champignon pendant une demi-heure, dans le formol pur ou dans l'alcool absolu et si on fait agir ensuite le bleu de méthylène à 1 0 0, on colore la métachromatine qui apparaît à l'intérieur des vacuoles sous la forme de granulations rouge pourpre très foncé. Le protoplasma se colore en bleu clair. Les conidies sont aussi remplies de granulations métachromatiques.

Si, après la même fixation, on colore avec l'hémalum, on voit les noyaux colorés en bleu clair, le protoplasma prend une teinte bleue plus clair, tandis que les noyaux et la métachromatine se colorent en rouge pourpre très foncé, presque noir.

FIG. 6. — Distribution du glycogène après l'action de la solution de Lugol.

FIG. 7. — Noyaux et chondriome colorés par l'hématoxyline ferrique.

La fixation au formol et la coloration consécutive avec le soudan III, permet de colorer les graisses qui apparaissent en rouge orangé. Dans les filaments morts, celles-ci s'accumulent en un gros globule dans le protoplasma rétracté. Si on fait agir l'hémalun après cette coloration, on colore en même temps les noyaux, la métachromatine et les graisses.

La coloration à l'hématoxyline ferrique, après fixation au Bouin ou au Flemming, permet l'étude des noyaux. Ceux-ci présentent un nucléole et une membrane nucléaire et sont au nombre de trois ou quatre dans chaque article. Le protoplasma prend une coloration gris bleuâtre et les vacuoles apparaissent comme des espaces clairs.

La même coloration à l'hématoxyline ferrique après fixation au formol, au Mevès ou par la méthode de Benda, permet l'étude du chondriome qui se présente sous la forme de longs filaments onduleux et parfois ramifiés (fig. 7).

Laboratoires du Dr Sabouraud à l'Hôpital Saint-Louis et du Prof. Guilliermond à la Faculté des sciences de Paris.

NOTES ET INFORMATIONS

Helminthologie. — Nous avons déjà signalé (ces *Ann.*, VII, 1929, p. 247) la publication du *Manuel d'helminthologie médicale et vétérinaire* d'H.-A. Baylis. Cet excellent ouvrage a été suivi de près par le Traité d'helminthologie (*Human helminthology. A Manual for clinicians, sanitarians and medical zoologists*) rédigé par E. Carroll Faust, Professeur de parasitologie au collège de médecine de l'Université Tulane, à la Nouvelle-Orléans.

Bien que limité aux helminthes de l'homme, ce livre embrasse en réalité la science des vers parasites dans toute son ampleur. Peu de questions, en effet, en parasitologie, ont fait autant de progrès que l'helminthologie, soit au point de vue clinique, soit au point de vue biologique. Aussi, pour donner une idée de ces acquisitions, l'auteur a-t-il consacré tout un chapitre à l'histoire de l'helminthologie. Cette revue historique fait suite, dans la première partie du livre, à des considérations générales sur le parasitisme des helminthes et sur leurs relations avec leurs hôtes. Un autre chapitre traite de la nosogéographie des helminthiases, si intimement liée à la distribution des hôtes intermédiaires et aux conditions physiques du milieu. On ne saurait trop féliciter l'auteur d'avoir rappelé aux lecteurs de ce livre les règles de la nomenclature zoologique et d'avoir donné, en plus des listes bibliographiques qui terminent chaque chapitre, une liste générale de traités et de périodiques dont la lecture est nécessaire à l'helminthologiste. On y trouvera de précieuses indications pour la constitution d'une bibliothèque.

Les vers plats d'un côté, les vers ronds de l'autre forment les deux parties centrales de l'ouvrage et la portion la plus importante, puisque, sur 616 pages, elles en comprennent 239 et 187, soit 426 pages, c'est-à-dire près des trois quarts. Les helminthes y sont étudiés suivant l'ordre zoologique. Des chapitres généraux exposent la classification des quatre classes d'helminthes : trématodes, cestodes, nématodes et acanthocéphales, réparties en sous-classes, ordres, sous-ordres, superfamilles et familles, un certain nombre de ces subdivisions portant des noms nouveaux. Les helminthes sont ensuite étudiés individuellement dans une série de chapitres où prennent place tous les détails zoologiques, biologiques, cliniques et épidémiologiques, en un mot tout ce qui, pour chaque parasite humain, intéresse le clinicien, l'hygiéniste et le parasitologue.

La quatrième et dernière section traite du diagnostic parasitologique des helminthes. Ce diagnostic est envisagé de la manière la plus large et

comprend non seulement l'examen des excréments et liquides organiques, mais encore les réactions biologiques : fixation du complément, floculation, précipitation, intradermoréaction. Enfin, un dernier chapitre donne un catalogue raisonné, accompagné de brèves descriptions, des hôtes intermédiaires et des réservoirs de virus qui jouent un rôle en helminthologie. L'illustration du volume est très riche puisqu'elle ne comprend pas moins de 297 figures dont un certain nombre forment des tableaux occupant une page entière ; un bon nombre d'entre elles sont originales, notamment les diagrammes très suggestifs des cycles évolutifs de divers helminthes.

M. Langeron.

RÉPERTOIRE
DES ESPÈCES ET DES GENRES NOUVEAUX [1]

Hyphomycètes

Scopulariopsis americana Ota. *Conidiosporaceæ.* Peau. Homme. Etats-Unis. *Japan. journ. of dermat. and urol.*, XXVIII, 1928, p. 189 (p. 7 du résumé français).

Phœoscopulariopsis Ota. *Conidiosporaceæ.* Espèce type : *P. paisii* (Pollacci) (= *Torula paisii* Pollacci). *Japan. journ. of dermat. and urol.*, XXVIII, 1928, p. 193 (p. 7 du résumé français).

Indiella americana Delamare et Gatti. *Incertæ sedis.* Mycétome du pied. Homme. Paraguay. *C. R. Acad. sc.*, CLXXXVIII, 1929, p. 1264.

Actinomyces lepromatis H.-C. de Souza-Araujo. *Actinomycetaceæ.* Léprome. Homme. Brésil. *C. R. Soc. biol.*, C, 1929, p. 937.

Trichophyton areolatum P. Negroni. *Conidiosporaceæ.* Cuir chevelu. Enfant. France. *Ann. de paras.*, VII, 1929, p. 438.

M. Langeron.

Ascomycètes

Saccharomyces annulatus P. Negroni. *Saccharomycetaceæ.* Abcès épididymaire. Homme. Bucarest (Roumanie). *Ann. de paras.*, VII, 1929, p. 303.

Hanseniospora guilliermondi Pijper. *Saccharomycetaceæ.* Onychomycose. Homme. Pretoria. *Koninklijke Akad. van Wetenschappen Amsterdam, Proc.*, XXXI, 1928, p. 992.

M. L.

Protozoaires incertæ sedis

Eperythrozoon coccoides V. Schilling. Sang. Souris blanche. Allemagne. *Klin. Woch.*, VII, 1928, p. 1853.

Eperythrozoon dispar Bruynoghe et Vassiliadis. Sang. *Arvicola arvalis* et *Mus minutus.* Belgique. *Ann. de parasitologie*, VII, 1929, p. 361.

Gyromorpha musculi Dinger. Sang. *Mus musculus.* Hollande. *Nederl. Tijdschr. v. Geneesk.*, LXXXII, 1928, p. 5903.

Grahamella ehrlichi Yakimoff. Sang. *Perca fluviatilis.* Russie, lac Pidmozero. *Archiv. für Protist.*, LXVI, 1929, p. 305.

M. L.

(1) La Direction des *Annales de Parasitologie* prie instamment les auteurs qui décrivent des espèces parasitaires nouvelles de vouloir bien lui adresser leurs travaux, *15, rue de l'Ecole-de-Médecine, à Paris*, afin qu'il en soit tenu compte dans le plus court délai. A défaut de tirés à part, on peut envoyer une liste des espèces nouvellement décrites, avec indications bibliographiques.

Sporozoaires

Ægyptianella pullorum Carpano. *Piroplasmidæ*. Sang (hématies). Poulet. Egypte. *Clinica veterinaria*, LII, 1929, p. 339.

Sarcocystis debonei Vogelsang. Sarcosporidie. Muscles. *Molothrus bonarensis* (Passériformes). Uruguay. *Ctrlbl. für Bakt., Orig.*, CXIII, 1929, p. 206.

Sarcocystis corderoi Vogelsang. Sarcosporidie. Muscles. *Passer domesticus* (Passériformes), *Guira guira* (Cuculiformes). Uruguay. *Ctrlbl. für Bakt., Orig.*, CXIII, 1929, p. 206.

Eimeria arnoldoi Pinto et Maciel. *Eimeridæ*. Vésicule biliaire. *Tamnodynastes strigilis* Themberg (Reptile). São Paulo (Brésil). *Rev. med.-cir. do Brasil*, XXXVII, 1929, p. 206.

Isospora neivai Pinto et Maciel. *Eimeridæ*. Intestin. *Bothrops jararaca* (Wied. 1824). (Reptile). São Paulo (Brésil). *Rev. med.-cir. do Brasil*, XXXVII, 1929, p. 208.

Myxobolus guyenoti A. Naville. Myxosporidie. Branchies. *Perca fluviatilis* L. Lac Léman. *Ztschr. für Zellforschung und mikr. anat.*, VII, 1928, p. 232.

Eimeria yakimovi E.-F. Rastégaïeff. *Eimeridæ*. Intestin. *Boselaphus tragocamelus* Pall. (Nylghai) (Inde). Jardin zool. de Leningrade (Pétrograde). *Bull. Soc. pathol. exot.*, XXII, 1929, p. 70.

M. L.

Flagellés

Trypanosoma chetostomi F. da Fonseca et Vaz. *Trypanosomidæ*. Sang. *Chetostomus* sp. (Poisson). Rio Piracicaba, Etat de São Paulo (Brésil). *Boletim biol.*, fasc. 15, 1929, p. 36.

Trypanosoma piracicaboe F. da Fonseca et Vaz. *Trypanosomidæ*. Sang. *Loricaria piracicaboe* Ihering (Poisson). Rio Piracicaba, Etat de São Paulo (Brésil). *Boletim biol.*, fasc. 15, 1929, p. 38.

Trypanosoma larai F. da Fonseca et Vaz. *Trypanosomidæ*. Sang. *Prochilodus* sp. (Corumbata uvu) (Poisson). Rio Piracicaba, Etat de São Paulo (Brésil). *Boletim biol.*, fasc. 15, 1929, p. 40.

M. L.

Infusoires

Turchiniella culicis Grassé et de Boissezon. *Cheliferidæ* (?). Hémocœle. *Culex* sp. adulte. Montpellier (France). *Bull. Soc. zool. de France*, LIV, 1929, p. 187.

M. L.

Trématodes

Opisthogonimus afranoi C. Pereira. *Lepodermatidæ*. Œsophage. *Chironius carinatus* (L., 1758), *Philodryas schottii* (Schlegel, 1837), *Bothrops neuwiedii* Wagler, 1824 (Ophidiens). Sud du Brésil. *Rev. do Museu Paulista*, XVI, 1929, p. 8.

Dexiogonimus G. Witenberg. *Heterophyidæ*. Espèce type : *D. ciureanus*. *Ann. of trop. med. and paras.*, XXIII, 1929, p. 170.

Dexiogonimus ciureanus G. Witenberg. *Heterophyidæ*. Intestin. Chien et chat. Palestine. *Ann. of trop. med. and paras.*, XXIII, 1929, p. 170.

Diorchitrema G. Witenberg. *Heterophyidæ*. Espèce type : *D. pseudocirrata*. *Ann. of trop. med. and paras.*, XXIII, 1929, p. 173.

Diorchitrema pseudocirrata G. Witenberg. *Heterophyidæ*. Intestin. Chien et chat. Palestine. *Ann. of trop. med. and paras.*, XXIII, 1929, p. 174.

Parascocotyle ascolonga G. Witenberg. *Heterophyidæ*. Intestin. Chien et chat. Palestine. *Ann. of trop. med. and paras.*, XXIII, 1929, p. 194.

Cercarioides G. Witenberg. *Heterophyidæ*. Espèce type : *C. aharonii*. *Ann. of trop. med. and paras.*, XXIII, 1929, p. 197.

Cercarioides aharonii G. Witenberg. *Heterophyidæ*. Intestin. *Puffinus kuhli* (Procellariiformes). Suez. *Ann. of trop. med. and paras.*, XXIII, 1929, p. 198.

Adleria G. Witenberg. *Heterophyidæ*. Espèce type : *A. minutissima*. *Ann. of trop. med. and paras.*, XXIII, 1929, p. 206.

Adleria minutissima G. Witenberg. *Heterophyidæ*. Intestin. Chien et chat. Palestine. *Ann. of trop. med. and paras.*, XXIII, 1929, p. 206.

Paradistomum gregarinum Tubangui. *Dicrocœliidæ*. Nom. nov. pro *P. magnum* Tubangui, 1928 (= *P. magnum* Travassos, 1920). Vésicule biliaire. *Hemidactylus frenatus* (Reptile). Los Baños, Philippines. *Philipp. Journ. of sc.*, XXXVIII, 1929, p. 443.

Catoptroides lacustri S. L. Loewen. *Gorgoderidæ*. Vessie. *Ameiurus lacustris* (Walbaum, 1792) (Poisson-chat). Minnesota, U. S. A. *Parasitology*, XXI, 1929, p. 56.

Trichopus gaillimhe P. A. Little. *Tristomidæ* (Monogénèse). Branchies. *Trigla hirundo, T. lucerna* (Poissons). Irlande. *Parasitology*, XXI, 1929, p. 117.

M. L.

Mesocœlium brevicaecum Ochi in S. Goto et Y. Ozaki. *Dicrocœliidæ*. Intestin. *Bufo vulgaris formosus*. Hiroshima, Otsu, Japon. *Japan. journ. of zool.*, II, 1929, p. 213.

Mesocœlium elongatum S. Goto et Y. Ozaki. *Dicrocœliidæ*. Intestin. *Diemyctylus pyrrhogaster* Boie. Hiroshima, Sendai (Japon). *Japan. journ. of zool.*, II, 1929, p. 215.

Mesocœlium lanceatum S. Goto et Y. Ozaki. *Dicrocœliidæ*. Intestin (?). *Tylotriton andersoni*. (Amphibien). Iles Ryukyu (Japon). *Japan. journ. of zool.*, II, 1929, p. 216.

Macrolecithus gotoi Y. Ozaki. *Lepodermatidæ*. Intestin. *Misgurnus anguillicaudatus* (Cantor) (*Cobitidæ*) (Poisson). Japon. *Dobutsu Gaku Zasshi*, XXXVIII, 1926, p. 225.

Watsonius hawkesi T. Fukui. *Amphistomidæ*. Intestin. *Elephas indicus*. Japon. *Dobutsu Gaku Zasshi*, XXXIX, 1927, p. 313.

R.-Ph. Dollfus.

Le Gérant : F. Amirault.

Cahors, Imprimerie Coueslant *(personnel intéressé)*. — 38.751